EXPOSÉ DES TITRES

ET DES

TRAVAUX SCIENTIFIQUES

DE

A. GRIGAUT

CHEF DE TRAVAUX DE CHIMIE A LA FACULTÉ
DE MÉDECINE DE PARIS

PARIS
MASSON ET Cie, ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN

1923

TITRES SCIENTIFIQUES

Interne en pharmacie des hôpitaux (1907).
Pharmacien de 1re classe (1908).
Externe en médecine des hôpitaux (1910).
Chef de travaux de chimie à la Faculté de Médecine (1911).
Docteur en médecine (1913).
Lauréat de la Faculté de Médecine (Médaille d'argent, 1913).
Lauréat de l'Académie de Médecine (Prix Buignet, 1914).
Lauréat de l'Académie des Sciences (Prix Chaussier, 1919).
Membre de la Société de Biologie.
Membre de la Société chimique de France.
Membre de la Société de chimie biologique.
Membre de la Société de gastro entérologie.
Membre de la Société d'histoire de la Médecine.

Distinctions honorifiques.

Chevalier de la Légion d'Honneur.
Croix de guerre.

Enseignement.

Conférences de chimie biologique à la clinique médicale du professeur Chauffard (Hôpital Saint-Antoine).

TRAVAUX SCIENTIFIQUES

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

1909

1. **Procédé de recherche de l'urobiline dans le sang et les humeurs de l'organisme.** *Société de Biologie*, 8 mai 1909, p. 725.
2. **Considérations sur la méthode de l'intra-cérébro-inoculation pour la recherche des toxines dans le névraxe. Fixation de la toxine diphtérique sur la substance nerveuse** (En coll. avec Georges Guillain et Guy Laroche). *Société médicale des Hopitaux*, 12 novembre 1909, p. 544.

1910

3. **Procédé colorimétrique de dosage de la cholestérine dans l'organisme.** *Société de Biologie*, 7 mai 1910, p. 791.
4. **Dosage colorimétrique de la cholestérine dans l'organisme.** *Ibid.*, 14 mai 1910, p. 827.
5. **Hémorragies occultes bronchiques et buccales** (En coll. avec Charles Richet fils). *Ibid.*, 28 mai 1910, p. 908.
6. **De la stabilité des différents composés arsenicaux et en particulier de l'hectine et de l'arsenobenzol vis-à-vis des agents réducteurs** (En coll. avec A. Chauffard). *Société médicale des Hôpitaux*, 18 novembre 1910, p. 480.

1911

7. **Le taux de la cholestérinémie chez les hépatiques** (En coll. avec A. Chauffard et Guy Laroche). *Société de Biologie*, 7 janvier 1911, p. 20.
8. **Évolution de la cholestérinémie chez les typhiques** (En coll. avec A. Chauffard et Guy Laroche). *Ibid.*, 14 janvier 1911, p. 70.
9. **Le taux de la cholestérinémie au cours des cardiopathies chroniques et des néphrites chroniques** (En coll. avec A. Chauffard et Guy Laroche). *Ibid.*, 21 janvier 1911, p. 108.

10. **La cholestérinémie au cours de la tuberculose pulmonaire** (En coll. avec A. Chauffard et Charles Richet fils). *Ibid.*, 25 février 1911, p. 276.
11. **Dosage comparé de la cholestérine dans le sérum et dans les œdèmes** (En coll. avec A. Chauffard et Charles Richet fils). *Ibid.*, 4 mars 1911, p. 317.
12. **Adsorption et activation de la toxine diphtérique par la substance nerveuse et ses lipoïdes phosphorés** (En coll. avec Guy Laroche). *Ibid.*, 1er avril 1911, p. 516.
13. **Évolution de la cholestérinémie au cours de l'état gravidique et puerpéral** (En coll. avec A. Chauffard et Guy Laroche). *Ibid.*, 1er avril 1911, p. 536.
14. **Le taux de la cholestérine dans le sang du cordon ombilical et dans le liquide amniotique** (En coll. avec A. Chauffard et Guy Laroche). *Ibid.*, 8 avril 1911, p. 568.
15. **Rôle des protéines dans l'adsorption et la neutralisation de la toxine tétanique par la substance nerveuse** (En coll. avec Guy Laroche). *Ibid.*, 29 avril 1911, p. 657.
16. **Évolution de la cholestérinémie au cours de l'état gravidique et puerpéral** (En coll. avec A. Chauffard et Guy Laroche). *L'Obstétrique*, mai 1911, p. 481.
17. **Le taux de la cholestérine dans le liquide céphalo-rachidien normal et pathologique** (En coll. avec A. Chauffard et Guy Laroche). *Société de Biologie*, 27 mai 1911, p. 855.
18. **Le taux de la cholestérinémie chez les herbivores et les rongeurs.** *Ibid.*, 29 juillet 1911, p. 274.
19. **La diarrhée des glycosuriques. Élimination du sucre par les matières fecales** (En coll. avec L. Rénon et Charles Richet fils). *XIIe Congrès français de médecine*, Lyon, octobre 1911.
20. **Sur le dosage de la cholestérine dans les tissus. Procédé pondéral.** *Société de Biologie*, 18 novembre 1911, p. 441.
21. **Méthode du dosage de la cholestérine dans le sérum et dans les tissus. Procédé colorimétrique.** *Ibid.*, 25 novembre 1911, p. 513.
22. **Évolution de la cholestérinémie au cours des infections aiguës** (En coll. avec. A. Chauffard et Guy Laroche). *Semaine médicale*, 6 décembre 1911.
23. **Étude biologique et chimique de l'adsorption des toxines diphtérique et tétanique par la substance nerveuse et des phénomènes corrélatifs** (En coll. avec Guy Laroche). *Annales de l'Institut Pasteur*, décembre 1911, p. 892.

1912

24. **Fonction éliminatrice de l'intestin. Élimination du glucose de l'urée et du chlorure de sodium par la muqueuse gastro-intestinale** (En coll. avec Charles Richet fils). *Société de Biologie*, 27 janvier 1912, p. 143.
25. **Fonction cholestérinigénique du corps jaune. Preuves histologiques**

(En coll. avec A. Chauffard et Guy Laroche). *Ibid.*, 10 février 1912, p. 223.

26. **A propos du dosage de la cholestérine. Réponse à M. Gérard.** *Ibid.*, 10 février 1912, p. 223.

27. **Fonction cholestérinigénique du corps jaune. Preuves chimiques** (En coll. avec A. Chauffard et Guy Laroche). *Ibid.*, 17 février 1912, p. 265.

28. **Fonction cholestérinigénique du corps jaune** (En coll. avec A. Chauffard et Guy Laroche). *Archives mensuelles d'Obstétrique et de Gynécologie*, 5 mai 1912.

29. **Les « protéocholestérides » du sérum et leur dédoublement en vue de l'extraction totale de la cholestérine.** *Ibid.*, 8 juin 1912, p. 912.

30. **Sur le dosage de la cholestérine. Réponse à MM. Gérard et Iscovesco.** *Ibid.*, 29 juin 1912, p. 1046.

31. **De la teneur en cholestérine des capsules surrénales dans différents états pathologiques** (En coll. avec A. Chauffard et Guy Laroche). *Ibid.*, 6 juillet 1912, p. 23.

32. **Dosage rigoureux de la cholestérine par la méthode de dosage dans le sérum et dans les tissus.** *Ibid.*, 20 juillet 1912, p. 200.

33. **Taux comparé de la cholestérine des hématies et du sérum dans le sang normal et pathologique** (En coll. avec A. L'Huillier). *Ibid.*, 20 juillet 1912, p. 202.

34. **Hypercholestérinémie d'origine alimentaire chez le chien** (En coll. avec A. L'Huillier). *Ibid.*, 27 juillet 1912, p. 304.

35. **L'hypercholestérinémie d'origine surrénale** (En coll. avec Jean Troisier). *XIIIe Congrès français de médecine*, Paris, octobre 1912.

36. **Sur l'origine de la cholestérine et la valeur de la théorie de Flint** (En coll. avec Guy Laroche). *Ibid.*, 26 octobre 1912, p. 413.

37. **Sur le dosage de l'urée par l'hypobromite** (En coll. avec P. Brodin). *Société de Biologie*, 16 novembre 1912, p. 458.

38. **Contribution à l'étude de l'origine endocrine de la cholestérine sanguine. L'hypercholestérinémie d'origine surrénale** (En coll. avec Jean Troisier). *Presse médicale*, 28 décembre 1912.

1913

39. **Sur la recherche de l'urobiline et de la bilirubine dans les fèces par l'oxydation directe.** *Société de Biologie*, 8 février 1913, p. 265.

40. **Cholestérine et cholestérinémie.** *Biologie médicale*, mars 1913, p. 89.

41. **Recherches sur l'origine de la cholestérine biliaire** (En coll. avec A. Chauffard et Guy Laroche). *Société de Biologie*, 10 mai 1913, p. 1005.

42. **Recherches expérimentales sur la cholestérinémie après ligature du cholédoque** (En coll. avec A. Chauffard et Guy Laroche). *Ibid.*, 24 mai 1913, p. 1093.

43. **Le cycle de la cholestérinémie.** *Thèse* doctorat en médecine. Paris, 1913.

Prix Buignet à l'Académie de médecine. Médaille d'argent de la Faculté de médecine.

1914

44. **Nouvelles recherches sur la teneur en cholestérine des capsules surrénales au cours de différents états pathologiques** (En coll. avec A. Chauffard et Guy Laroche). *Société de Biologie*, 28 mars 1914, p. 529.
45. **Concrétions intestinales en imposant pour des calculs biliaires chez un malade atteint de coliques hépatiques** (En coll. avec Roger Glénard). *Société de Biologie*, 2 mai 1914, p. 727.
46. **Le taux du glucose dans le sang total chez des individus normaux** (En coll. avec P. Brodin et Rouzaud). *Société de Biologie*, 2 mai 1914, p. 708.
47. **Élévation du taux du glucose dans le sang total au cours des infections** (En coll. avec P. Brodin et Rouzaud). *Société de Biologie*, 13 juin 1914, p. 91.

1918

48. **La teneur en cholestérine des capsules surrénales aux différents stades de la vie fœtale** (En coll. avec A. Chauffard et Guy Laroche). *Société de Biologie*, 25 janvier 1918.
49. **L'intoxication par les plaies de guerre. Pathogénie du shock** (En coll. avec Pierre Duval). *Comptes rendus*, 14 octobre 1918, p. 562.
50. **L'intoxication par les plaies de guerre. La rétention azotée des blessés** (En coll. avec Pierre Duval). *Société de Biologie*, 19 octobre 1918, p. 873.
51. **L'intoxication par les plaies de guerre. La désintégration azotée des tissus traumatisés** (En coll. avec Pierre Duval). *Bull. et Mém. de la Soc. de Chir. de Paris*, 22 octobre 1918, p. 1508.
52. **Essai de traitement de la grippe par la plasmothérapie** (Injections intraveineuses de plasma de convalescent) (En coll. avec Fr. Moutier). *Comptes rendus*, 18 novembre 1918, p. 765.
53. **Dosage colorimétrique de l'azote non protéique du sang par le réactif de Nessler** (En coll. avec Fr. Guérin). *Société de Biologie*, 7 décembre 1918, p. 1139.

1919

54. **Procédé précis de dosage de l'urée dans de faibles quantités de sang** (En coll. avec Fr. Guérin). *Société de Biologie*, 11 janvier 1919, p. 25.
55. **Sur la mesure de la protéolyse microbienne** (En coll. avec Fr. Guérin et Mme Pommay-Michaux). *Société de Biologie*, 25 janvier 1919, p. 66.
56. **La théorie du schock toxique et la toxémie microbienne** (En coll. avec Pierre Duval). *Bull. et Mém. de la Société de Chirurgie de Paris*, 1er avril 1919, p. 565.
57. **Le dosage de l'urée et de l'azote non protéique dans le sang et dans les tissus par le réactif de Nessler** (En coll. avec F. Guérin). *Journal de Pharmacie et de Chimie*, 1919, t. XIX, p. 233 et 281.

58. **Nouvelles méthodes chimiques en pathologie et leurs résultats.** Mémoire couronné par l'Académie des sciences (prix Chaussier, 1919).
59. **La déshydratation du pancréas dans le coma diabétique** (En coll. avec A. Chauffard). *Bull. et Mém. de la Société médicale des hôpitaux*, 7 novembre 1919, p. 939.
60. **Les substances azotées non protéiques du sang en pathologie.** *Plus ultra*, Madrid, décembre 1919.

1920

61. **Élévation du taux du glucose dans le sang total au cours des néphrites aiguës et chroniques.** *Société de Biologie*, 24 janvier 1920, p. 53.
62. **Le dosage de l'acide urique dans le sang** (En coll. avec A. Chauffard et P. Brodin). *Société de Biologie*, 8 mai 1920, p. 672.
63. **Les lipoïdes en pathologie. Lipoïdes circulants, lipoïdes fixes** (En coll. avec A. Chauffard et Guy Laroche). *Rapport présenté au XIVe Congrès français de médecine*, Bruxelles, 19-22 mai 1920.
64. **La cholestérinémie à l'état normal et pathologique** (En coll. avec A. Chauffard et Guy Laroche). *Annales de médecine*, août 1920, p. 69.
65. **Le cycle de la cholestérine dans l'organisme** (En coll. avec A. Chauffard et Guy Laroche). *Annales de médecine*, septembre 1920, p. 149.
66. **Procédé colorimétrique de dosage de l'acide urique dans le sang.** *Société de Biologie*, 16 octobre 1920, p. 1273.
67. **Les dépôts locaux de cholestérine. Rapports entre la cholestérine circulante et la cholestérine fixée** (En coll. avec A. Chauffard et Guy Laroche). *Annales de médecine*, novembre 1920, p. 1321.
68. **L'hyperuricémie dans la goutte et dans la gravelle** (En coll. avec A. Chauffard et P. Brodin). *Presse médicale*, 15 décembre 1920, p. 305.

1921

69. **L'action d'arrêt du foie sur l'acide urique exogène** (En coll. avec A. Chauffard et P. Brodin). *Comptes rendus*, 21 février 1921, p. 477.
70. **La teneur en acide urique des urines dans la goutte et dans la gravelle** (En coll. avec A. Chauffard et P. Brodin). *Presse médicale*, 23 février 1921, p. 153.
71. **Spécificité de la réaction phosphotungstique pour le dosage de l'acide urique.** Le rapport des bases xanthiques à l'acide urique. *Société de Biologie*, 9 avril 1921, p. 632.
72. **Sur l'emploi de l'acide trichloracétique et du sulfate de cuivre comme adjuvants dans la méthode de Kjeldahl.** Application à l'urine. *Société de Biologie*, 23 avril 1921, p. 716.
73. **Dosificacion de la colesterina en la sangre.** *Laboratorio*, avril 1921, p. 999.
74. **Les variations sanguines de la cholestérine de l'urée et de l'acide urique sous l'influence de la cure hydrominérale de Contrexéville**

(En coll. avec C. Bricout et Jean Schneider). *Presse médicale*, 1[er] juin 1921, p. 434.

75. **L'azote non protéique du sang.** *Biologie médicale*, 1921, n° 10.

76. **Procédé simplifié de dosage de l'azote non protéique du sang** (En coll. avec J. Thiéry). *Société de Biologie*, 5 novembre 1921, p. 812.

77. **Le choc anaphylactique.** *L'évolution médico-chirurgicale*, novembre 1921, p. 271.

1922

78. **Teneur en acide urique des hématies** (En coll. avec A. Chauffard et P. Brodin). *Société de Biologie*, 7 janvier 1922, p. 31.

79. **Concepto actual del shock.** *Archivos de medicina, cirurgia y especialidades*. Madrid, 1922, p. 201.

80. **Le dosage de l'acide urique dans le sang.** *Bull. de la Société de Chimie Biologique*, janvier 1922, t. IV, p. 11-12.

81. **Le métabolisme de l'acide urique.** *Biologie médicale*, janvier-février 1922, p. 30.

82. **Diffusibilité clinique comparée de l'acide urique et de l'urée** (En coll. avec A. Chauffard et P. Brodin). *Société de Biologie*, 18 février 1922, p. 355.

83. **El metabolismo normal y patologico del acido urico.** *Archivos de medicina, cirurgia y especialidades*. Madrid, avril 1922, p. 97.

84. **L'hypo-uricémie** (En coll. avec A. Chauffard et P. Brodin). *Société de Biologie*, 6 mai 1922, p. 918.

85. **Étude de la désalbumination par l'acide métaphosphorique. Application à l'analyse chimique du sang, des liquides pathologiques et du liquide céphalo-rachidien** (En coll. avec P. Zizine). *Bull. de la Société de Chimie Biologique*, juillet-août 1922, t. IV, p. 388.

86. **La désalbumination par l'acide métaphosphorique et son intérêt en clinique** (En coll. avec P. Zizine). *La Médecine*, septembre 1922.

87. **Diffusibilité dialytique comparée de l'urée, du chlorure de sodium, de l'acide urique et du glucose** (En coll. avec A. Chauffard et P. Brodin). *Annales de médecine*, octobre 1922, n° 4, p. 257.

INTRODUCTION

Les travaux rapportés dans cet exposé constituent une application de la chimie à la médecine. Ils ont été pour la plupart entrepris en collaboration avec mon maître M. le Pr Chauffard dont j'ai l'honneur d'être le chef de laboratoire depuis l'année 1911.

Chaque fois qu'un problème pathologique me fut posé, mon premier souci a toujours été d'établir une technique chimique suffisamment simple pour faciliter les recherches en série et qui néanmoins apporte dans ses résultats toute la précision requise. Pénétré de cette idée que les résultats ne valent que par la rigueur du procédé qui leur a donné naissance, j'ai apporté tous mes soins à l'édification de ces techniques, base des recherches ultérieures. L'investigation clinique, complétée par l'expérimentation faisait suite à ce premier travail et conduisait aux déductions concernant la physiologie et la pathologie.

La méthode qui a présidé à ces recherches se retrouve dans le plan de cet exposé divisé en chapitres correspondant aux substances qui ont plus spécialement été l'objet de mes études : *cholestérine, acide urique, glucose, azote non protéique, urobiline et bilirubine, toxines diphtérique et tétanique*. On trouvera dans chacun de ces chapitres tout d'abord la description et la critique de la méthode chimique instituée en vue des recherches et ensuite les constatations qui grâce à elle ont pu être faites dans le domaine de la médecine et de la physiologie.

I

CHOLESTÉRINE

LE DOSAGE DE LA CHOLESTÉRINE DANS LE SANG ET DANS LES TISSUS

J'ai indiqué deux procédés originaux de dosage de la cholestérine qui ont servi de base aux recherches cliniques et physiologiques sur la cholestérine de l'organisme, poursuivies avec M. le Pr Chauffard et ses élèves.

Le premier de ces procédés est un *procédé pondéral.* La cholestérine extraite par l'éther sulfurique en milieu alcalin, après saponification à l'autoclave, est purifiée par l'éther de pétrole. On obtient finalement un produit parfaitement pur et cristallisé, présentant les constantes physiques de la cholestérine, à savoir :

Point de fusion : 145-148°.

$[\alpha]_D = -36°,61 + 0,249\,p$ en solution chloroformique pour $p = 2$ à 8 grammes.

Le second procédé est un *procédé colorimétrique*. Il utilise la coloration bleue donnée par la réaction de Liebermann. La cholestérine est extraite du sérum avec la totalité des graisses et lipoïdes au moyen de l'alcool-éther et le solvant évaporé laisse un résidu sur lequel est pratiquée directement la réaction de Liebermann. Les chiffres fournis par ce procédé rapide coïncident à moins de 5 pour 100 près avec ceux que donne le procédé pondéral.

LES « PROTÉOCHOLESTÉRIDES » DU SÉRUM ET LEUR DÉDOUBLEMENT EN VUE DE L'EXTRACTION TOTALE DE LA CHOLESTÉRINE.

La première condition pour le dosage rigoureux de la cholestérine est l'*extraction totale* de ce corps du milieu à étudier. Ce point n'a pas toujours été suffisamment observé par les auteurs antérieurs, de là les divergences dans les chiffres obtenus.

On admettait comme un dogme que le meilleur moyen et le plus sûr d'extraire la cholestérine du sérum était de dessécher celui-ci et d'épuiser ensuite la poudre obtenue à l'appareil à épuisement continu de Soxhlet au moyen de l'éther sulfurique. J'ai démontré que le sérum ainsi traité ne cédait à l'éther qu'une infime proportion de la cholestérine qu'il contient (environ 1/3). Dans certaines de mes expériences, l'épuisement éthéré à l'appareil de Soxhlet a été poursuivi pendant *plusieurs mois* sans que pour cela les résultats aient été meilleurs.

Si on reprend alors la poudre de sérum ainsi épuisée et qu'on la traite à l'autoclave à 110° par la lessive de soude, puis par l'éther sulfurique en suivant les indications du procédé pondéral que j'ai indiqué, on retrouve le surplus de cholestérine qui avait échappé à l'extraction par l'appareil Soxhlet. Dans l'une de mes expériences, un sérum ayant donné un chiffre de cholestérine égal à 0gr,53 par litre par l'extraction au Soxhlet, fournit encore après action de la lessive de soude à 110° un chiffre de cholestérine de 1gr,18 par litre.

Si au lieu d'épuiser par l'éther le sérum préalablement desséché, on épuise le sérum liquide en nature, la quantité de cholestérine qui passe dans l'éther est encore plus faible et correspond à peine à quelques centigrammes par litre pour un sérum humain normal.

Ces premières expériences montraient que dans le sérum sanguin, la cholestérine et ses éthers ne se trouvent pas à l'état de liberté, mais sous forme de combinaisons complexes qu'ils contractent avec certaines substances dont il restait à déterminer la nature.

Pour ce faire, j'ai procédé au traitement du sérum par divers agents avant de faire intervenir l'extraction éthérée. Les résultats furent des plus nets et tous les moyens susceptibles d'agir sur les substances

albuminoïdes en les modifiant ou en les détruisant se sont montrés capables de mettre en liberté la cholestérine du sérum et d'assurer son passage intégral dans l'éther. Parmi ceux-ci citons l'hydrolyse par les acides ou les alcalis, les digestions pepsique et papaïque, ou plus simplement la présence de l'alcool ou de l'acétone en quantité suffisante. La dessiccation, comme on vient de le voir, est peu efficace et est à elle seule insuffisante pour libérer en totalité la cholestérine de ses combinaisons complexes.

Ces expériences mettent nettement en évidence la nature albuminoïde des substances qui adsorbent la cholestérine dans le sérum sanguin comme d'ailleurs dans tous les tissus. C'est pour ces combinaisons complexes que j'ai proposé le terme de *protéocholestérides*.

*
* *

Dans les deux procédés de dosage que j'ai indiqués, l'extraction totale de la cholestérine par l'éther est assurée grâce à une dissociation intégrale des protéocholestérides du sang ou des tissus. Cette dissociation est obtenue d'une manière entièrement différente suivant qu'il s'agit du procédé par pesée ou du procédé colorimétrique.

1° *Dans le procédé pondéral, le dédoublement est assuré par une digestion aqueuse de une heure à 110° en milieu fortement sodé (20 pour 100 de NaOH).* Ces conditions sont plus que suffisantes pour le dédoublement des protéocholestérides et on pourrait arriver au même résultat en réduisant la concentration en soude et la température qui peut même être abaissée au-dessous de 100 degrés et compensée par une durée plus prolongée de l'hydrolyse. Mais l'obtention d'un résidu final formé de *cholestérine pure et cristallisée* exige au contraire l'ensemble des conditions énoncées ci-dessus et en particulier la digestion à la température de 110 degrés. Si l'on opère par exemple, toutes choses égales d'ailleurs, à une température de 100 degrés, on obtient encore la totalité de la cholestérine contenue dans le sérum ou le tissu étudié, mais le produit final reste souillé d'impuretés et ne présente pas les constantes physiques de la cholestérine pure.

2° *Dans le procédé colorimétrique, le dédoublement des protéocholes-*

térides est obtenu par simple addition d'alcool. La réaction est instantanée, mais nécessite pour être complète une certaine proportion d'alcool. Au fur et à mesure qu'augmentent les proportions d'alcool ajoutées au sérum, ou plus exactement au fur et à mesure que croît le *degré alcoolique* du mélange alcool + sérum, les quantités de cholestérine dissoutes par l'éther vont en croissant jusqu'à un maximum, qui correspond à l'épuisement complet du sérum. Le degré alcoolique minimum capable d'assurer l'épuisement complet du sérum, n'est pas fixe, mais varie avec la température. Plus élevé en hiver qu'en été, il se trouve compris dans nos laboratoires entre 40 et 46°.

Pratiquement, l'alcool employé est additionné d'un peu de soude. Celle-ci n'a d'autre but que de solubiliser les albumines précipitées par l'alcool de manière à rendre plus nette la séparation des couches éthérée et hydro-alcoolique et à favoriser l'extraction éthérée.

Le tableau suivant montre l'influence des degrés alcooliques croissants dans l'épuisement du sérum par l'éther.

Influence de l'alcool dans l'épuisement du sérum par l'éther.

DEGRÉ ALCOOLIQUE DU MÉLANGE	CHOLESTÉRINE CÉDÉE A L'ÉTHER ET RAPPORTÉE AU LITRE DE SÉRUM	
	Alcool non sodé	Alcool sodé
	grammes	grammes
0° (eau)	0,03	0,03
10°	0,05	0,05
20°	0,19	0,19
30°	0,44	0,44
40°	1,77	1,77
50°	1,77	1,77
60°	1,77	1,77
70°	1,77	1,77
80°	1,77	1,77

Dans le cas des tissus, le principe de l'épuisement est le même, mais on est obligé dans ce cas de s'aider de la chaleur pour obtenir la dissolution des albumines dans l'alcool sodé. C'est pourquoi le mélange tissu + alcool sodé est porté 20 à 30 minutes au bain-marie bouillant avant de procéder à l'extraction éthérée.

PROCÉDÉ PONDÉRAL DE DOSAGE DE LA CHOLESTÉRINE

Sur le dosage de la cholestérine dans les tissus. Procédé pondéral. *Société de Biologie*, 18 novembre 1911, p. 441.
A propos du dosage de la cholestérine. Réponse à M. Gérard. *Société de Biologie*, 10 février 1912, p. 223.
Sur le dosage de la cholestérine. Réponse à MM. Gérard et Iscovesco. *Société de Biologie*, 29 juin 1912, p. 1046.
Dosage rigoureux de la cholestérine par la méthode de dosage dans le sérum et dans les tissus. *Société de Biologie*, 20 juillet 1912, p. 200.

Technique.

Dans un ballon de 250 centimètres cubes, on place 20 centimètres cubes de sérum sanguin, 20 centimètres cubes de lessive de soude à 36° Baumé (400 grammes de NaOH par litre), et on porte le tout à l'autoclave à 110° pendant une heure.

Dans le cas des tissus, on mélange 5 à 10 grammes de tissu frais avec 40 centimètres cubes de lessive de soude diluée au demi, de manière à reproduire les conditions précédentes.

Le liquide sortant de l'autoclave est introduit dans une ampoule à décantation et agité lorsqu'il est encore tiède avec 60 centimètres cubes d'éther; dix secousses successives suffisent. Lorsque les liquides se sont séparés, on soutire entièrement la couche aqueuse inférieure dans le ballon de 250 centimètres cubes et, après l'avoir ramenée à une température de 35° environ, on procède à une seconde extraction éthérée de la même manière que précédemment.

Les liqueurs éthérées, évaporées dans une capsule en porcelaine laissent un résidu formé par la totalité de la cholestérine à laquelle se mêlent quelques impuretés. Afin de les éloigner, le résidu est dissous dans 50 centimètres cubes d'alcool à 95°, additionnés de 1 centimètre cube de soude alcoolique à 1 pour 100. On évapore le mélange au bain-marie, on porte à l'étuve à 100° pendant une demi-heure, puis on épuise le résidu à l'éther de pétrole que l'on verse dans la capsule encore chaude.

Par le repos, la masse des impuretés se dépose, laissant une liqueur éthérée limpide que l'on filtre sur amiante. On lave soigneusement

la capsule et l'entonnoir à l'éther de pétrole et on abandonne les solutions éthérées réunies à l'évaporation spontanée dans un petit cristallisoir taré. La cholestérine se sépare à l'état de pureté en longues aiguilles blanches et soyeuses rassemblées en aigrettes et en branches de genêt comme les cristaux de glucosazones. Il reste à procéder à la pesée après dessiccation du produit à l'étuve à 100° jusqu'à poids constant.

La pureté du résidu final est contrôlée par le fait qu'il présente les constantes physiques de la cholestérine, à savoir :

Point de fusion : 145-148° :

$[\alpha]_D = -36°,61 + 0,249$ p. en solution chloroformique pour p. = 2 à 8 grammes.

Cette méthode donne le chiffre de la cholestérine totale exprimée en cholestérine libre sans rien présumer de l'état libre ou de combinaison initial.

Chez l'homme sain, dans les conditions habituelles d'alimentation, le taux de la cholestérine est compris entre les chiffres de 1gr,60 et 1gr,80 par litre.

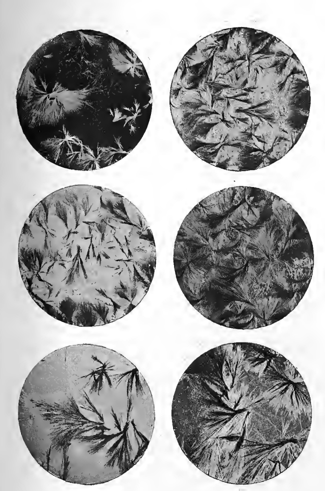
DISCUSSION

Extraction. — Une objection a été formulée à ce sujet par Iscovesco qui prétendait que, malgré la saponification préalable, l'épuisement total ne pouvait être obtenu, une certaine quantité de cholestérine restant combinée aux savons sous forme de *complexe indécomposable par l'éther*.

J'ai démontré que cette opinion n'était pas fondée, et que le sérum saponifié, comme il a été dit précédemment, cédait la totalité de sa cholestérine à l'éther. L'expérience peut être faite au moyen de l'appareil de Katz[1] à épuisement continu pour liquides plus légers que l'eau. Le liquide saponifié introduit dans cet appareil et épuisé pendant 48 heures ne cède plus trace de cholestérine à l'éther, *même après acidification* et la réaction de Liebermann pratiquée sur le résidu laissé par l'éther est toujours absolument négative.

Dans la présente méthode où le mode d'épuisement est plus simple, l'extraction complète est cependant encore réalisée. En effet, le

1. Appareil du Dr Katz, in Poulenc, *Nouveautés chimiques*, 1905.



Cristaux de cholestérine du sang.
(Méthode de Grigaut).

liquide saponifié et épuisé comme il est indiqué, traité ensuite pendant 48 heures à l'apparcil de Katz, ne cède plus à l'éther que des quantités extrêmement minimes de cholestérine évaluables à quelques centièmes de milligramme au moyen de la réaction de Liebermann.

Dosage. — L'extraction complète étant résolue, ce procédé ne pouvait fournir le chiffre rigoureux de la cholestérine que si la détermination pondérale portait sur un produit pur. Gérard, se basant sur les résultats de sa méthode, avait avancé que les chiffres 3 fois plus élevés qu'il obtenait avec ma méthode étaient dus à des *impuretés qui se mêlaient au résidu final de cholestérine.* Cette explication ne pouvait être soutenue devant le fait que le résidu fourni par ma méthode était *parfaitement cristallisé et présentait les constantes physiques de la cholestérine.*

Les écarts entre les deux méthodes résidaient en réalité dans une question d'extraction. Dans la méthode que j'ai indiquée, grâce à la saponification pratiquée directement sur le sérum, les combinaisons protéïques de la cholestérine sont détruites et l'épuisement intégral est par cela même devenu possible. Dans la méthode de Gérard, au contraire, l'épuisement au Soxhlet du sérum *desséché* laisse échapper les 2/3 de la cholestérine qui restent fixés aux albumines et que l'on peut retrouver facilement dans le résidu d'épuisement traité ensuite par ma méthode de saponification totale.

Ces débats ont été portés devant la Société Médicale des hôpitaux, qui nomma une commission. Celle-ci est venue par le jugement suivant confirmer la pureté du résidu isolé et pesé à la fin des manipulations de la présente méthode.

Rapport présenté a la Société médicale des hôpitaux au nom d'une Commission composée de MM. Pouchet, Marcel Labbé, Legendre, Grimbert et Meillière rapporteur. — « Vous nous avez chargés d'étudier la méthode de dosage de la cholestérine dans le sérum publiée par M. Grigaut, et de voir en particulier si la cholestérine ainsi isolée est dans un état de pureté permettant le contrôle de ses constantes physiques.

« Nous devions également vérifier si la quantité de cholestérine isolée par ce procédé atteint bien les taux obtenus dans le laboratoire de M. le Pr Chauffard, tant chez les sujets sains que chez les

sujets atteints des diverses affections auxquelles correspondent des états d'hyper et d'hypo-cholestérinémie.

« Nous avons prié M. Grigaut de répéter devant nous les diverses phases du dosage de la cholestérine que nous allons brièvement rappeler : chauffage du sérum à l'autoclave à 110° pendant une heure, après addition de 1 volume et demi de soude à 20 pour 100 ; épuisement du sérum par deux agitations successives avec volume égal d'éther pur ; distillation de l'éther, reprise du résidu par 60 centimètres cubes d'alcool à 90° additionné de 1 centimètre cube de soude alcoolique au centième ; évaporation au bain-marie et maintien à l'étuve à 100° pendant une demi-heure ; traitement de résidu par l'éther de pétrole ; séparation de ce dernier dissolvant après sédimentation spontanée des impuretés, filtration sur un tampon d'*amiante* ; évaporation, pesée du résidu après poids constant ; vérification du point de fusion au bloc de Maquenne ou par la méthode du tube effilé plongeant dans un bain d'huile.

« Toutes les phases de la manipulation se sont déroulées sous nos yeux sans qu'aucune nous ait paru présenter la moindre difficulté d'application.

« *Le produit obtenu présente bien les caractères physiques et les réactions colorées de la cholestérine.*

« Nous n'avons pu vérifier le pouvoir rotatoire, étant données les petites quantités de cholestérine isolées, mais le point de fusion a oscillé dans les divers essais entre + 145° et + 148°.

« MM. Pouchet, Grimbert et Meillière ont tenu à répéter eux-mêmes dans leurs laboratoires respectifs le dosage de la cholestérine par la méthode de M. Grigaut. Ces essais les ont conduits aux mêmes constatations que celles faites dans le laboratoire de M. le Pr Chauffard.

« En ce qui concerne le taux de cholestérine obtenu par le procédé Grigaut chez l'homme normal et chez les malades, les expériences exécutées par votre Commission lui ont donné en particulier : chez le sujet normal, 1gr,80 ; chez le pneumonique, 1gr,20 ; chiffres conformes à ceux donnés par M. Chauffard dans des cas analogues.

« Notre enquête vérifie donc bien dans son ensemble la réalité des faits apportés à votre tribune par M. le Pr Chauffard et par ses collaborateurs. »

PROCÉDÉ COLORIMÉTRIQUE DE DOSAGE DE LA CHOLESTÉRINE

Procédé colorimétrique de dosage de la cholestérine dans l'organisme. *Société de Biologie*, 7 mai 1910, p. 791.
Dosage colorimétrique de la cholestérine dans l'organisme. *Société de Biologie*, 14 mai 1910, p. 827.
Méthode de dosage de la cholestérine dans le sérum et dans les tissus. Procédé colorimétrique. *Société de Biologie*, 25 novembre 1911, p. 513.
Dosage de la cholestérine dans le sang. *Laboratorio*, avril 1921, p. 999.

Les premiers dosages colorimétriques que j'ai pratiqués ont été effectués sur le sérum desséché épuisé à l'appareil Soxhlet. Aussi les chiffres obtenus étaient-ils notablement inférieurs aux chiffres réels contenus dans le sérum (0gr,10 à 0gr,40 au lieu de 1gr,60 à 1gr,80 par litre de sérum humain normal). Je me suis bien vite aperçu que cette méthode classique d'épuisement ne pouvait convenir au sérum sanguin et c'est alors que j'ai institué le procédé d'extraction à l'alcool-éther qui est employé depuis. Ce procédé d'extraction rappelle dans ses grandes lignes le procédé d'Adam pour le dosage du beurre dans le lait, dont il reconnaît le même principe.

La question de l'extraction étant réglée, il restait à démontrer que la réaction de Liebermann convient dans tous les cas au dosage de la cholestérine dans le sang et les tissus. Comme d'autre part la réaction colorimétrique est pratiquée sur l'*ensemble des graisses et lipoïdes*, il fallait s'assurer :

1° Que de toutes les substances contenues dans l'extrait éthéré, *seule* la cholestérine donne la réaction de Liebermann.

2° Qu'à côté de la cholestérine, il n'existe pas dans le sang ou les tissus d'autres stérines (isocholestérine, coprostérine) capables de donner une réaction de Liebermann différente de celle de la cholestérine et de venir par cela même troubler les dosages.

3° Que la cholestérine du sang et des tissus se présente toujours avec les mêmes caractères chimiques et donne partout la réaction de Liebermann avec la même intensité.

Pour répondre à ces questions, j'ai préparé à l'état de pureté les différents corps contenus ou susceptibles d'être contenus dans l'extrait éthéré : graisses neutres, acides gras, savons, lécithine, céphaline,

cérébrosides, protagon, glycérine ; aucun de ces corps ne m'a donné la réaction de Liebermann.

J'ai examiné à de nombreuses reprises la réaction de Liebermann pratiquée sur la cholestérine extraite de sangs et de tissus normaux et malades et j'ai toujours trouvé la succession des teintes et les caractères spectroscopiques propres à la cholestérine pure. Cette réaction consiste en une succession de colorations passant rapidement par le rouge, le bleu, le bleu-vert pour aboutir finalement à une belle teinte verte. Pendant le court moment où la solution est rouge, on aperçoit au spectroscope deux bandes d'absorption fugaces situées à chaque extrémité du vert. Au stade de la coloration bleue on constate dans l'orangé une large bande qui se réduit progressivement en une raie étroite en *d*. Enfin, quand le liquide a pris sa teinte verte, une raie intense se manifeste dans le rouge entre B et C ; elle existe bientôt seule et persiste très longtemps. Je n'ai jamais perçu d'autres bandes d'adsorption caractéristiques d'autres stérines et notamment la large bande comprise entre les raies D et E qui révèle la présence de l'*isocholestérine*.

La cholestérine constitue donc le seul représentant des stérines dans le sang et les tissus de l'homme sain ou pathologique et même dans la peau comme l'ont montré Unna et Golodetz, on ne trouve trace d'*isocholestérine* ou d'autre substance insaponifiable capable de troubler la réaction type de Liebermann. Certains produits de transformation de la cholestérine qui existent dans les tissus : les *oxycholestérines* ne constituent nullement une contre-indication à l'emploi de la réaction de Liebermann pour le dosage de la cholestérine car de l'avis même de Lifschütz qui les a découvertes et étudiées, elles donnent la réaction de Liebermann exactement dans les mêmes conditions et avec la même intensité que la cholestérine. Le dosage colorimétrique par la réaction de Liebermann comprendra ainsi dans ses chiffres la totalité de la cholestérine, y compris les oxycholestérines.

La réaction de Liebermann telle que je l'emploie dérive d'une modification apportée par Burchard et consistant en l'introduction de chloroforme dans le mélange anhydride acétique et acide sulfurique. J'ai calculé les proportions de ces réactifs, de manière à obtenir la teinte maxima dans un délai relativement rapide, tout en laissant à la réaction une stabilité suffisante, afin d'avoir le temps d'opérer la détermination colorimétrique.

Ainsi pratiquée la réaction est complète au bout d'une demi-heure et se maintient constante au moins pendant un quart d'heure. On a donc tout le temps nécessaire pour procéder à la colorimétrie. En employant des doses plus élevées d'acide sulfurique la réaction atteindrait encore plus rapidement son apogée, mais elle déclinerait également avec plus de rapidité.

Les proportions réciproques de chloroforme et d'anhydride acétique n'ont pas besoin d'être exactement observées. Par contre, les proportions d'acide sulfurique ont une importance capitale et il est de toute nécessité de compter toujours le même nombre de gouttes et avec le même compte-gouttes pour avoir des résultats comparables.

Enfin ajoutons que la réaction est modifiée par la présence d'eau ou d'alcool en proportions sensibles. On emploiera donc des produits anhydres autant que possible et du chloroforme commercial de préférence au chloroforme anesthésique.

Le procédé colorimétrique ainsi compris permet facilement une *approximation à 5 pour 100* près. Si on pratique en effet la réaction sur une série de tubes contenant des quantités de cholestérine différant entre elles de $0^{gr},0001$ et comprises entre $0^{gr},0001$ et $0^{gr},0030$, on obtient une gamme de teinte progressivement croissante. Or la différenciation des teintes est très facile pour les quantités de cholestérine comprises entre $0^{gr},0001$ et $0^{gr},0020$; elle est plus difficile pour les quantités comprises entre $0^{gr},0020$ et $0^{gr},0030$, et ne devient tout à fait impossible que pour des teintes correspondant à des doses de cholestérine supérieures à $0^{gr},0030$.

SOLUTIONS ET RÉACTIFS NÉCESSAIRES

1° Une solution chloroformique exactement titrée de cholestérine contenant $0^{gr},06$ de cholestérine pour 100 centimètres cubes.

2° Alcool à 60° contenant 1/200° de soude.

3° Alcool à 70° contenant 1/100° de soude.

4° Ether sulfurique du commerce.

5° Chloroforme du commerce.

6° *Anhydride* acétique pur.

7° Acide sulfurique à 66° Baumé.

TECHNIQUE

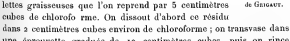
Pour le sérum. — Placer dans un cholestérimètre (petite ampoule à décantation marquée à 15 et à 30 centimètres cubes) 2 centimètres cubes de sérum, puis de l'alcool à 60° sodé jusqu'au trait de jauge marqué 15 centimètres cubes. Mélanger et ajouter de l'éther jusqu'au trait de jauge marqué 30 centimètres cubes, Boucher et mélanger à nouveau en retournant deux fois l'appareil.

Laisser reposer, soutirer la couche aqueuse inférieure et la remplacer par 20 centimètres cubes environ d'eau que l'on fera couler le long des parois de l'appareil. On abandonne au repos pendant 5 minutes ; on soutire l'eau et on procède à un second lavage dans les mêmes conditions.



Cholestérimètre de Grigaut.

Après séparation complète des eaux de lavage l'éther est versé dans une capsule en porcelaine de 60 centimètres cubes. On y joint les quelques centimètres cubes d'éther qui auront servi à rincer l'appareil et on évapore à siccité au bain-marie.



Il reste dans la capsule un résidu formé de gouttelettes graisseuses que l'on reprend par 5 centimètres cubes de chlorofo rme. On dissout d'abord ce résidu dans 2 centimètres cubes environ de chloroforme ; on transvase dans une éprouvette graduée de 10 centimètres cubes, puis on rince soigneusement la capsule avec le reste du chloroforme employé en plusieurs fois et que l'on joindra au précédent.

On pratique alors la réaction de Liebermann en mélangeant aux 5 centimètres cubes de la solution chloroformique, 2 centimètres cubes d'anhydride acétique pur et V gouttes normales d'acide sulfurique et abandonnant au repos pendant une demi-heure.

En même temps, dans un autre tube gradué qui sert d'étalon colorimétrique, on mélange de la même manière 5 centimètres cubes de la solution chloroformique de cholestérine à 0gr,06 pour 100, 2 centimètres cubes d'anhydride acétique et V gouttes comptées au même compte-gouttes d'acide sulfurique.

Au bout d'une demi-heure la coloration verte de la réaction de Liebermann a atteint dans les tubes son complet développement.

On procède alors immédiatement au dosage colorimétrique.

Pour ce faire, on peut d'une manière très simple verser 5 centimètres cubes des deux solutions colorées dans les deux tubes d'un colorimètre à dilution et amener l'égalité des teintes en diluant selon les cas l'un ou l'autre des deux liquides avec un mélange dans les proportions précédentes de chloroforme, anhydride acétique et acide sulfurique.

Soit alors n, le nombre de centimètres cubes marqués par la solution diluée.

Le chiffre P de cholestérine contenue dans un litre de sérum sera de:

1° $$P = 1^{gr},50$$

dans le cas où les teintes sont égales.

2° $$P = 0,30 \times n \text{ grammes}$$

dans le cas de dilution de la solution à doser.

3° $$P = \frac{7,50}{n} \text{ grammes}$$

dans le cas de dilution de l'étalon.

Pour les tissus. — Dans un flacon de 90 centimètres cubes, placer $0^{gr},20$ à 1 gramme de tissu selon sa teneur en cholestérine, 30 centimètres cubes d'alcool à 70° sodé et porter le tout au sein d'un bain-marie bouillant jusqu'à ce que le tissu soit dissous et que le volume du mélange soit réduit à 15 centimètres cubes.

On introduit ces 15 centimètres cubes dans un cholestérimètre ; on rince le flacon de 90 centimètres cubes avec 15 centimètres cubes d'éther que l'on transvase ensuite dans le cholestérimètre et on poursuit les opérations comme précédemment.

Le poids P de cholestérine contenue dans un kilogramme de tissu sera obtenu par les relations précédentes dans lesquelles on fera figurer le poids p variable de la prise d'essai.

1° Dans le cas de dilution de la solution à doser, on aura :

$$P = \frac{0,6\,n}{p} \text{ grammes.}$$

2° Dans le cas de dilution de l'étalon, on aura :

$$P = \frac{15}{n \times p} \text{ grammes.}$$

Ce procédé, comme le procédé pondéral, donne le chiffre de la cholestérine totale exprimée en cholestérine libre, sans rien présumer de l'état libre ou de combinaison initial.

Il permet de doser des quantités minimes de cholestérine pouvant aller jusqu'à 1/100e de milligramme.

DISCUSSION

Il est facile de se rendre compte que dans ce procédé l'extraction de la cholestérine est complète, en reprenant les liquides résiduels et en les traitant selon les données du procédé pondéral pour le dosage de la cholestérine.

C'est ainsi, par exemple, que des résidus aqueux réunis, provenant d'une série de 10 dosages colorimétriques pratiqués sur un même sérum titrant 2gr,24 de cholestérine, je n'ai pu retirer que 0gr,00015 de cholestérine déterminés par la réaction de Liebermann. En rapportant ce chiffre au litre, on voit que le sérum au lieu d'une teneur de 2gr,24 contenait en réalité 2gr,2475 de cholestérine par litre. L'erreur est donc pratiquement négligeable.

Les eaux de lavage traitées de la même manière ne fournissent pas trace de cholestérine, même décelée au moyen de la réaction de Liebermann dont on connaît la sensibilité. On est donc également assuré dans cette technique contre les pertes que peuvent engendrer les lavages.

Enfin, comparé au procédé pondéral précédemment décrit, le procédé colorimétrique donne des chiffres qui n'en diffèrent au maximum que de 5 pour 100. Ce fait donne la preuve directe de l'exactitude de ce procédé. L'écart existant entre les deux méthodes doit être mis sur le compte de la légère imprécision que comporte toute détermination colorimétrique, imprécision qui de l'avis de la plupart des auteurs peut être précisément évaluée à 5 pour 100 au maximum.

RÉPARTITION DE LA CHOLESTÉRINE DANS L'ORGANISME

Dosage comparé de la cholestérine dans le sérum et dans les œdèmes (En coll. avec A. CHAUFFARD et Charles RICHET fils). *Société de Biologie*, 4 mars 1911.

Le taux de la cholestérine dans le sang du cordon ombilical et dans le liquide amniotique (En coll. avec A. CHAUFFARD et Guy LAROCHE). *Société de Biologie*, 8 avril 1911, p. 536.

Le taux de la cholestérine dans le liquide céphalo-rachidien normal et pathologique (En coll. avec A. CHAUFFARD et Guy LAROCHE). *Société de Biologie*, 27 mai 1911, p. 855.

Taux comparé de la cholestérine des hématies et du sérum dans le sang normal et pathologique (En coll. avec A. L'HUILLIER). *Société de Biologie*, 20 juillet 1912, p. 202.

La cholestérinémie à l'état normal et pathologique (En coll. avec A. CHAUFFARD et Guy LAROCHE). *Annales de médecine*, août 1920, p. 69.

LA CHOLESTÉRINE DANS LE SANG

Depuis Hepner et Hürthle, on admet que dans le sérum sanguin la cholestérine existe sous forme de combinaison avec l'acide oléïque et l'acide palmitique. Widal, Weill et Laudat ont montré que néanmoins 1/4 à 1/5 de la cholestérine du sérum n'est pas combinée et se trouve à l'état de cholestérine libre, et que cette proportion peut augmenter considérablement au cours de l'ictère par rétention.

Dans les globules rouges, au contraire, la cholestérine existe entièrement à l'état de cholestérine libre.

Malgré l'état chimique différent de la cholestérine dans le sérum

et dans les hématies, il est curieux de constater qu'à l'état normal le taux est sensiblement le même dans les différentes parties constituantes du sang.

J'ai montré précédemment que, dans le sérum sanguin, le taux moyen normal de la cholestérine est de 1gr,60. Les différents dosages que j'ai effectués sur les hématies permettent de fixer leur taux moyen normal à 1gr,50, chiffre peu différent de celui du sérum comme on le voit.

J'ai cherché également à savoir s'il en était de même à l'état pathologique, et si la cholestérine des hématies suivait tout au moins dans un certain rapport les variations de la cholestérine sérique. Les recherches entreprises à ce sujet avec A. L'Huillier m'ont permis de dire que :

1° A l'état normal, le taux de la cholestérine est sensiblement le même dans le sérum, le plasma, le sang total et les hématies.

2° A l'état pathologique, le taux de la cholestérine des hématies varie peu et reste à peu près indépendant des variations profondes qui surviennent dans le taux du sérum.

3° Enfin, le taux du sérum est constamment le même que le taux du plasma et comme il était à prévoir le taux du sang total prend à chaque instant une valeur intermédiaire entre le taux du sérum et le taux des hématies.

Le sérum sanguin est donc en résumé le siège par excellence des variations de la cholestérinémie ; c'est là qu'elles se présentent au maximum et *c'est là qu'elles doivent être recherchées.*

LA CHOLESTÉRINE DANS LES TISSUS

La cholestérine fait partie intégrante de tous les protoplasmas cellulaires au même titre que les protéines. Son taux dans les différents organes constitue en quelque sorte une *constante* caractéristique de l'organe. Les recherches que j'ai entreprises chez les mammifères et qui sont résumées dans le tableau suivant m'ont permis en effet de constater que pour un organe déterminé, le taux de la cholestérine est toujours sensiblement le même quel que soit l'animal envisagé.

Teneur de 1000 grammes de tissu humide en cholestérine totale.

	POUMON	RATE	REIN	FOIE	PANCRÉAS	CŒUR	MUSCLE
Cobaye.	3,42	3,10	3,41	3,41	—	1,41	0,78
Lapin.	3,98	—	3,54	2,94	—	1,38	0,61
Mouton.	4,46	4,32	3,96	3,58	2,31	1,32	0,78
Bœuf.	3,58	4,05	3,62	3,32	—	1,28	0,75
Veau.	4,45	—	3,45	2,52	—	1,47	0,62
Porc.	4,38	4,26	3,46	3,51	2,94	1,13	0,72
Homme.	4,52	4,30	2,88	3,12	2,24	1,48	0,76
Chien.	5,28	4,26	3,13	3,08	1,96	1,14	0,78

LA CHOLESTÉRINE DANS LES LIQUIDES D'ŒDÈME

Dans les liquides d'œdème, le taux de la cholestérine toujours très inférieur à celui du sérum est en moyenne de 0gr,10 par litre. La cholestérine se comporte ainsi comme les autres colloïdes albumines et graisses, et traverse difficilement la membrane dialysante, tandis que les cristalloïdes : urée, chlorures, glucose, figurent dans les liquides d'œdème à un taux sensiblement égal à celui du sérum.

LA CHOLESTÉRINE DANS LE LIQUIDE AMNIOTIQUE

Le lique amniotique pur a une teneur à peu près fixe en cholestérine de 0gr,10 par litre, c'est-à-dire exactement semblable à celle des liquides d'œdème. Ce taux s'élève de quelques centigrammes dans les liquides amniotiques colorés par le méconium ou tenant en suspension les déchets épithéliaux de desquamation fœtale.

Au point de vue de sa teneur en cholestérine, le liquide amniotique se comporte donc comme un *transsudat dialytique,* analogue à la sérosité des œdèmes, et cette constatation confirme ce que l'on savait déjà pour ses autres constituants : les graisses, les protéines, la cholestérine sont retenues par le filtre vasculaire dialyseur et ne passent qu'en minime proportion, tandis que l'urée, les chlorures se retrou-

vent dans le liquide amniotique en proportions sensiblement égales à celles du sang maternel.

LA CHOLESTÉRINE DANS LE LIQUIDE CÉPHALO-RACHIDIEN

Le taux de la cholestérine du liquide céphalo-rachidien est compris entre 0gr,008 et 0gr,015 par litre. Cette teneur n'est pas influencée par les augmentations qui peuvent survenir dans le taux de la cholestérine sanguine. Elle ne varie pas non plus au cours des diverses affections du système nerveux. Elle n'est augmentée qu'en cas d'hémorragie méningée où l'apport de cholestérine s'effectue à la faveur de l'effraction de la muqueuse méningée.

LA CHOLESTÉRINE DANS LES LIQUIDES D'ÉPANCHEMENT

D'une manière générale, les liquides d'épanchement contiennent moins de cholestérine que le sérum, mais le taux est cependant plus élevé que celui des liquides étudiés précédemment.

Dans la *pleurésie purulente,* on observe dans la règle un chiffre de cholestérine supérieur à celui du sérum, mais cette augmentation n'est qu'apparente et doit être mise sur le compte des leucocytes qui contiennent une proportion élevée de cholestérine. En effet, si on pratique le dosage sur le liquide centrifugé, on trouve un chiffre semblable à celui des autres liquides d'épanchements, tandis que le culot de centrifugation constitué par les leucocytes accuse un chiffre considérable.

Les *pleurésies à paillettes* ne contiennent pas malgré leur apparence un chiffre exagéré de cholestérine. Il semble que la cristallisation de la cholestérine soit due plutôt dans ces liquides à une diminution des conditions de solubilisation de la cholestérine qu'à une augmentation exagérée de son taux.

Il n'existe aucun rapport entre le taux de la cholestérine dans le liquide d'épanchement et le taux de cholestérine dans le sérum du malade.

LA CHOLESTÉRINE DANS L'URINE

La cholestérine n'existe qu'à l'état de traces dans l'urine, atteignant à peine $0^{gr},01$ par litre. Ce taux n'est pas augmenté chez les sujets hypercholestérinémiques. Je ne l'ai pas non plus trouvé augmenté dans deux échantillons d'urines présentant dans leur sédiment quelques cristaux de cholestérine. Il en a été de même dans un cas d'urine chyleuse provenant d'un malade atteint de filariose et dans plusieurs cas d'urines contenant des gouttelettes graisseuses dans leur sédiment.

LA CHOLESTÉRINE DANS LA BILE

Il faut distinguer entre la *bile circulante* qui s'écoule librement des canaux hépatiques et la *bile vésiculaire* qui séjourne dans la vésicule biliaire.

Les dosages que j'ai pratiqués dans la *bile circulante* humaine provenant de fistules biliaires, m'ont indiqué un taux moyen de $0^{gr},40$ de cholestérine par litre de bile. Les variations de la cholestérine biliaire autour de ce taux se sont montrées de peu d'importance.

Au contraire la *bile vésiculaire* a une teneur extrêmement variable en cholestérine. Le taux moyen est de $1^{gr},80$ par litre de bile, mais on peut observer des chiffres très faibles descendant jusqu'à $0^{gr},10$ et des chiffres très forts s'élevant jusqu'à $7^{gr},50$. Les recherches, publiées avec M. le Pr Chauffard et Guy Laroche, et pratiquées sur les biles vésiculaires prélevées aux autopsies à la clinique de l'hôpital Saint-Antoine, montrent que d'une manière générale la bile des cirrhoses et des ictères par rétention contient très peu de cholestérine. Au contraire le taux est plus élevé que la normale dans les néphrites chroniques; enfin, les biles gravidiques sont exceptionnellement riches en cholestérine. Le taux de la cholestérine de la bile vésiculaire de malades morts d'infections aiguës est tantôt très bas, tantôt très élevé.

D'une façon générale, on peut dire, à la suite de ces recherches, que le *taux de la cholestérine biliaire est le reflet de la cholestérinémie*. On conçoit l'importance de cette constatation dans l'explication des phénomènes qui président à la genèse de la lithiase biliaire.

VARIATIONS PHYSIOLOGIQUES DE LA CHOLESTÉRINÉMIE

Évolution de la cholestérinémie au cours de l'état gravidique et puerpéral (En coll. avec A. Chauffard et Guy Laroche). *Société de Biologie*, 1er avril 1911, p. 536. *L'Obstétrique*, mai 1911, p. 481

Le taux de la cholestérinémie chez les herbivores et les rongeurs. *Société de Biologie*, 29 juillet 1911, p. 274.

Hypercholestérinémie d'origine alimentaire chez le chien (En coll. avec A. L'Huillier). *Société de Biologie*, 27 juillet 1912, p. 304.

INFLUENCE DE L'ALIMENTATION SUR LA CHOLESTÉRINÉMIE

L'étude du bilan cholestérinique chez le chien soumis à diverses alimentations plus ou moins riches en cholestérine m'avait montré qu'une partie de la cholestérine alimentaire disparaissait pendant la traversée digestive. Il était à présumer que cette disparition était due à l'absorption intestinale et on pouvait espérer en donner la preuve directe par l'analyse du sang.

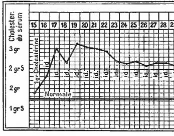
Déjà Pribam en faisant ingérer à des lapins la cholestérine ou ses éthers en émulsion dans l'huile avait vu augmenter le taux de la cholestérinémie chez ces animaux. Dorée, Ellis, Fraser et Gardner avaient fait les mêmes constatations avec la phytostérine. Klein avait pu noter chez le chien une absorption moyenne de 1gr,10 de cholestérine sur 2 grammes administrés avec la nourriture.

En collaboration avec A. L'Huillier, j'ai repris ces expériences sur le chien, en faisant varier les doses de cholestérine administrées et les conditions de cette administration.

Dans nos premières expériences la cholestérine était ajoutée à la viande crue sans précaution spéciale. Dans ces conditions, il est rare d'observer une augmentation même minime de la cholestérine san-

guine et on retrouve dans les fèces la majeure partie de la cholestérine ingérée.

Dans les expériences ultérieures, la cholestérine fut dissoute dans une proportion importante de graisses avant d'être ajoutée à l'alimentation, à seule fin de favoriser son absorption par l'intestin. Les résultats furent plus intéressants. La courbe suivante montre l'hyper-



Hypercholestérinémie d'origine alimentaire chez le chien.

cholestérinémie alimentaire produite chez un chien de $7^{kgr},200$ à la suite de l'administration quotidienne d'un repas composé de :

Cholestérine.	1 gramme
Beurre.	75 grammes
Viande.	200 —

Le taux de la cholestérine fécale chez cet animal se maintint autour de la normale ($0^{gr},15$ à $0^{gr},40$ par jour) démontrant ainsi l'absorption intégrale de la cholestérine alimentaire. Cette cholestérine fécale était d'ailleurs uniquement constituée par de la *coprostérine*.

Mais il n'en va pas toujours ainsi et dans d'autres expériences analogues malgré l'administration quotidienne prolongée d'un ou plusieurs grammes de cholestérine dissoute dans le beurre, la courbe de la cholestérinémie ne quitta pas la normale ou ne subit qu'une ascension légère et fugace malgré la persistance du régime hypercholestérinique. On retrouve alors dans les fèces la majeure partie de la cholestérine ingérée. Il semble donc que dans certains cas, l'organisme soit réfractaire à l'absorption de la cholestérine alimentaire.

Par contre, chez d'autres chiens où la dose quotidienne de 75 grammes de beurre fut administrée seule *sans l'adjonction de cholestérine*, nous avons pu observer une ascension de la courbe de la cholestérine sanguine sans que cette ascension puisse s'expliquer par l'apport alimentaire de cholestérine préformée.

L'ensemble de ces recherches montre que si l'hypercholestérinémie alimentaire apparaît dans la règle à la suite d'un régime riche en cholestérine, elle n'est cependant pas constante et peut faire défaut dans certains cas.

D'autre part, l'hypercholestérinémie alimentaire peut s'observer à la suite d'un régime non spécialement cholestérinique, mais *riche en graisses*, sans que l'on puisse trouver l'explication de ce fait dans un simple apport de *cholestérine préformée*.

*
* *

L'influence du régime sur le taux de la cholestérine sanguine apparaît nettement lorsqu'on considère la cholestérinémie dans la série animale. L'étude du taux de la cholestérine du sérum que j'ai entreprise chez les mammifères montre que la valeur de la cholestérinémie est fonction de la richesse du régime en cholestérine. Peu accusée chez les rongeurs, elle s'élève chez les herbivores et prend des valeurs plus importantes chez les insectivores, les omnivores et les carnivores.

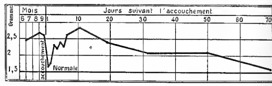
Taux moyen comparé de la cholestérinémie chez les mammifères.

	NOMBRE D'ANIMAUX EXAMINÉS	TAUX MOYEN DE LA CHOLESTÉRINÉMIE	CHIFFRES EXTRÊMES TROUVÉS
Rat.	8	0,35	0,24 et 0,45
Cobaye.	10	0,40	0,22 et 0,50
Lapin.	28	0,45	0,18 et 0,85
Ovidés (mouton, chèvre).	46	0,65	0,50 et 0,93
Equidés (cheval, âne).	43	0,80	0,48 et 1,40
Suidés (porc).	48	1	0,38 et 1,60
Bovidés (bœuf).	52	1,30	0,40 et 2,30
Hérisson.	2	1,50	1,45 et 1,55
Homme.	»	1,60	0,40 et 17,30
Chat.	8	1,50	0,90 et 2,50
Chien.	46	1,80	1,30 et 2,30

INFLUENCE DE L'ÉTAT GRAVIDIQUE ET PUERPÉRAL SUR LA CHOLESTÉRINÉMIE

Les recherches entreprises avec M. le Pr Chauffard et Guy Laroche et qui portent sur 112 femmes pour la plupart suivies en série nous ont permis de conclure que :

L'hypercholestérinémie est la règle pendant toute la durée de la grossesse. Très fréquente pendant les sept premiers mois, elle est



Courbe de l'hypercholestérinémie chez la femme gravide.

pour ainsi dire constante les deux derniers mois et se continue jusqu'à la fin de la grossesse.

Après l'expulsion du fœtus et dans les six jours qui suivent, on voit en général la courbe de la cholestérinémie s'infléchir et revenir au taux normal. Mais cette dépression est de courte durée et n'occupe guère que la fin de la première journée et la seconde qui suivent l'accouchement. L'hypercholestérinémie réapparaît ensuite graduellement et vers le onzième jour des couches, elle a retrouvé sa fréquence et son intensité primitives.

Enfin, à une période plus reculée, l'état hypercholestérinémique persiste encore pendant un certain temps ; son intensité moyenne, néanmoins, va en diminuant, et, en général, vers la fin du deuxième mois, le sérum sanguin a repris sa teneur normale en cholestérine. Klinkert en Hollande, Mauriac et Strymbau à Bordeaux ont confirmé ces constatations.

La courbe ci-dessus qui correspond à une parturiente suivie en série pendant plusieurs mois est un exemple de cette évolution typique de la cholestérinémie au cours de l'état gravidique et puerpéral.

L'allaitement, pas plus d'ailleurs que l'âge des gravidiques ou le nombre de leurs grossesses antérieures, ne nous a paru influer sur l'hypercholestérinémie, ni régler son intensité. Nous n'avons non plus trouvé au cours de ces recherches, aucun rapport entre le chiffre de l'hypercholestérinémie et l'état de lactescence du sérum, état qui, on le sait, est assez fréquent dans la période qui avoisine la parturition.

Chez 14 femmes en couches, nous avons pu doser la teneur en cholestérine du sérum obtenu avec le sang s'écoulant de l'extrémité placentaire du cordon ombilical sectionné avant la délivrance. Le sang examiné correspond au sang de la veine ombilicale qui se rend du placenta au fœtus. Le chiffre le plus élevé dans ces 13 cas a été de 0,85 pour 100, le plus faible de 0,35, la teneur moyenne étant de 0,55. Ces variations individuelles ne nous ont paru avoir aucun rapport défini avec le taux plus ou moins élevé de la cholestérinémie maternelle.

La cholestérinémie de la veine ombilicale est donc beaucoup plus faible que la cholestérinémie maternelle, bien qu'elle atteigne encore un degré assez élevé et reste très supérieure à un simple échange dialytique. Le placenta, pour la cholestérine, comme pour beaucoup d'autres produits, joue le rôle d'un organe d'élaboration, d'une véritable *glande* destinée à subvenir aux besoins du développement fœtal.

La réaction hypercholestérinémique qui s'empare de l'organisme maternel au cours de la grossesse n'est pas un fait isolé et a la même signification que l'augmentation des substances azotées, phosphorées, calciques et sulfurées destinée d'après les recherches de Bar et Daunay à *subvenir aux besoins du fœtus*.

Mais l'augmentation de la cholestérine du sérum ne répond pas seulement à un besoin organique chez la femme enceinte et semble jouer également un rôle *antitoxique*. En effet, tandis que les substances de réserve signalées par Bar et Daunay reviennent immédiatement et définitivement à la normale aussitôt l'expulsion du fœtus, la baisse de la cholestérinémie au contraire n'est que de courte durée et l'hypercholestérinémie se réinstalle bientôt. Par un processus analogue à celui que l'on voit évoluer au cours de l'infection, l'organisme semble ainsi réagir contre les intoxications déterminées par la parturition.

VARIATIONS PATHOLOGIQUES DE LA CHOLESTÉRINÉMIE

Le taux de la cholestérinémie chez les hépatiques (En coll. avec A. Chauffard et Guy Laroche). *Société de Biologie*, 7 janvier 1911, p. 20.

Évolution de la cholestérinémie chez les typhiques (En coll. avec A. Chauffard et Guy Laroche). *Société de Biologie*, 14 janvier 1911, p. 70.

Le taux de la cholestérinémie au cours des cardiopathies chroniques et des néphrites chroniques (En coll. avec A. Chauffard et Guy Laroche). *Société de Biologie*, 21 janvier 1911, p. 108.

La cholestérinémie au cours de la tuberculose pulmonaire (En coll. avec A. Chauffard et Charles Richet fils). *Société de Biologie*, 25 février 1911, p. 276.

Évolution de la cholestérinémie au cours des infections aiguës (En coll. avec A. Chauffard et Guy Laroche). *Semaine médicale*, 6 décembre 1911.

Cholestérine et cholestérinémie. *Biologie médicale*, mars 1913, p. 89.

L'étude clinique de la cholestérinémie que j'ai entreprise avec M. le Pr Chauffard et ses élèves comporte actuellement plusieurs milliers de dosages pratiqués au cours des différentes maladies. Les constatations que nous avons pu faire dans ce domaine et dont les premières datent de 1910 ont été vérifiées depuis et confirmées par de nombreux expérimentateurs tant en France qu'à l'étranger. Les conclusions auxquelles nous sommes arrivés permettent de rapporter aux cinq catégories morbides suivantes les variations de la cholestérinémie observées en pathologie :

Les infections;
Le mal de Bright;
Le diabète;
Les maladies du foie.
La diathèse urique.

LA CHOLESTÉRINÉMIE DANS L'INFECTION

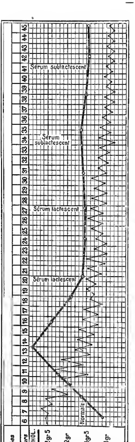
Le taux de la cholestérine subit de profondes variations au cours de l'infection. Si on cherche à classer les formes de la réaction cholestérinique d'après les différentes maladies, on est frappé du polymorphisme que peut revêtir la courbe de la cholestérine sanguine au cours de la même infection. Sans doute, il est courant comme pour la fièvre typhoïde, par exemple, de voir un certain type de courbe se dessiner, mais le type en rapport avec la forme la plus habituelle de la maladie se modifie avec les formes plus graves ou plus légères. Au contraire si on considère l'infection non plus d'après sa nature, mais d'après son degré de gravité, les différents types de la réaction cholestérinémique s'ordonnent parfaitement et telle réaction qui pour un état infectieux déterminé se présente avec son type complet sera au contraire à peine esquissée pour un état moins grave et nulle pour un état bénin. Deux facteurs surtout semblent régir la courbe réactionnelle cholestérinémique et lui imprimer ses caractères ; ce sont l'*intensité* et la *durée* de l'infection. On peut distinguer quatre types de réaction correspondant aux infections légères, aux infections de gravité moyenne, aux infections graves et aux infections très graves.

Dans l'*infection légère,* le taux de la cholestérinémie est peu ou pas modifié. C'est le cas de tous les tuberculeux apyrétiques ou subfébriles, chez lesquels on n'observe aucune modification dans le chiffre de la chalestérine sanguine.

Dans l'*infection de gravité moyenne,* on voit apparaître pendant la période d'état une *hypocholestérinémie* plus ou moins accusée ; le chiffre de la cholestérine regagne ensuite ses limites normales au moment de la chute thermique.

Dans l'*infection grave*, l'hypocholestérinémie de la période d'état est très accentuée et descend fréquemment jusqu'à 0gr,50 et même 0gr,40. Cette réaction hypocholestérinémique est suivie au moment de la défervescence d'une *réaction hypercholestérinémique* qui dans la règle atteint 2gr,50 et 3 grammes.

Enfin, dans l'*infection très grave,* l'hypocholestérinémie est très accentuée et la réaction hypercholestérinémique ne se produit pas.

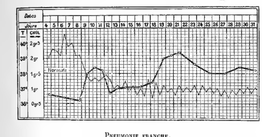


Fièvre typhoïde.
Réaction hypocholestérinémique suivie d'une réaction hypercholestérinémique intense.

Dans le cas de terminaison fatale, la courbe de la cholestérine sanguine reste constamment au-dessous de la normale jusqu'à la mort; dans le cas où le malade doit guérir la cholestérinémie après une période d'abaissement notable regagne lentement les limites normales, mais sans présenter comme précédemment de réaction hypercholestérinémique secondaire.

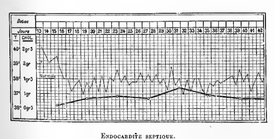
En résumé, on peut donc conclure de nos recherches que l'hypocholestérinémie est la règle pendant les périodes fébriles des infections aiguës, et qu'il semble exister un certain rapport proportionnel entre l'intensité du choc infectieux et l'abaissement du taux cholestérinémique. Cela ne veut pas dire que, à lui seul, le chiffre de la cholestérine soit un élément suffisant de pronostic et telle pneumonie guérit sans encombre qui donne en pleine période fébrile un chiffre de 0gr,50 seulement. La durée de cette hypocholestérinémie est réglée par la durée de l'infection; courte dans la pneumonie, elle est plus prolongée dans la fièvre typhoïde. Enfin au moment de la défer-

vescence, dans les infections de moyenne gravité, se produit une réaction hypercholestérinémique qui fait défaut dans les infections légères comme dans les infections très graves.



PNEUMONIE FRANCHE.
Réaction hypocholestérinémique suivie de réactions hypercholestérinémiques.

D'une manière générale, on peut donc dire que *la courbe cholestérinémique dans l'infection est jusqu'à un certain point proportionnée à*



ENDOCARDITE SEPTIQUE.
Réaction hypocholestérinémique persistante sans réaction hypercholestérinémique secondaire.
Mort au quarante-sixième jour de la maladie.

la courbe thermique dont elle suit l'évolution; mais les deux courbes se dessinent en sens inverse et s'entrecroisent au moment de la défervescence.

L'évolution de la courbe cholestérinémique pendant l'infection est

en rapport avec celle des autres processus réactionnels. A l'hypocholestérinémie de la période d'état correspond l'époque de moindre résistance de l'individu. C'est le moment où l'organisme cède devant l'intensité des phénomènes toxi-infectieux, c'est le moment où le sérum des typhiques se montre favorisant d'après les expériences de P. Courmont et Dufourt. Au contraire, au début de la convalescence, au moment où l'organisme se libère de l'infection, l'hypercholestérinémie apparaît. C'est la période où le sérum des typhiques devient vaccinant et où se développent les processus d'immunisation.

Ces faits mettent nettement en évidence le *rôle antitoxique* de la cholestérine. Est-ce à dire que c'est directement à l'augmentation de la cholestérine que le sérum de ces individus doive son immunité? Certes non, car la durée de l'hypercholestérinémie comparée à la durée de l'immunité est bien éphémère. Mais ce que l'on peut dire, c'est que cette hypercholestérinémie accompagne les grands processus de l'immunisation et préside ainsi d'une manière qu'il reste à déterminer à l'édification des anticorps.

Tout cet ensemble de faits nouveaux que nous avons signalés ont été confirmés par Mauriac et Defaye à Bordeaux, à Nancy par Étienne pour les paratyphoïdes, par Hugo Pribram, par Bacmeister en Allemagne, par Klinkert en Hollande, de Langen à Batavia, Edwin Henes aux États-Unis, Julius Bauer et Karl Skutsky en Autriche ; en Espagne par G. Maranon et P. Varillas chez des varioleux, où ces auteurs ont obtenu des courbes tout à fait analogues à nos courbes de typhiques.

LA CHOLESTÉRINÉMIE DANS LE MAL DE BRIGHT

Les recherches poursuivies avec A. Chauffard et Guy Laroche nous ont permis d'établir les faits suivants :

Dans la *néphrite aiguë*, on n'observe généralement aucune augmentation de la cholestérinémie même lorsque l'analyse dénote une rétention azotée plus ou moins importante.

Dans la *néphrite chronique*, au contraire, l'hypercholestérinémie est la règle. Elle atteint parfois des chiffres considérables et nous l'avons vu s'élever dans un cas jusqu'à 17gr,20 par litre.

L'hypercholestérinémie est également fréquente chez les malades

hypertendus, même lorsque l'albuminurie est peu marquée ou fait totalement défaut.

Il n'existe aucun rapport évident entre l'augmentation du taux de la cholestérine sanguine et l'une quelconque des différentes manifestations du mal de Bright. C'est ainsi qu'il est difficile d'établir une relation entre le degré de l'hypercholestérinémie et l'importance de l'azotémie, de la chlorurémie, de l'hypertension ou de l'albuminurie. De même il n'existe aucun rapport entre le degré de la cholestérinémie et celui de la lactescence du sérum.

La fréquence de l'hypercholestérinémie dans le mal de Bright en général est particulièrement intéressante à souligner dans le cas de *néphrite chlorurémique*, car elle fournit un excellent moyen de diagnostic pour la différencier d'avec l'asystolie, autre maladie à œdèmes. Dans les cardiopathies, en effet, même aux périodes terminales, le taux de la cholestérine du sang n'est jamais augmenté; il l'est, au contraire, pour ainsi dire toujours dans la néphrite.

L'ensemble de ces faits nouveaux que nous avons signalés ont été confirmés depuis par Mauriac et Defaye, Widal, Weill et Laudat, Hesses, etc...

La constatation de l'hypercholestérinémie des brightiques a contribué à orienter dans une voie nouvelle nos conceptions sur la *pathogénie de la rétinite brightique*. On sait depuis les recherches histologiques de A. Chauffard, Guy Laroche et Font-Réaulx que la rétinite à plaques blanches n'est autre qu'une infiltration lipoïdique dans laquelle figurent en abondance la cholestérine et ses éthers. Dans un mémoire paru en 1911[1], M. le Pr Chauffard attira le premier l'attention sur les rapports qui unissent l'hypercholestérinémie et la rétinite à plaques blanches. L'hypercholestérinémie est constante chez les malades atteints de rétinite à plaques blanches, qu'il s'agisse d'ailleurs de brightiques ou de diabétiques. Cette hypercholestérinémie coexiste avec une hypertension artérielle dont la fréquence est vraiment remarquable, même chez les diabétiques. Enfin il existe la plupart du temps une azotémie plus ou moins prononcée comme l'a montré M. le Pr Widal. Ces faits se trouvent confirmés par une statistique portant sur 38 cas, consignée dans notre rapport sur les lipoïdes

1. A. Chauffard, Les dépôts locaux de la cholestérine et leurs rapports avec la cholestérinémie. Livre jubilaire du Pr Lépine, *Revue de Médecine*, octobre 1911, p. 176.

en pathologie présenté avec A. Chauffard et Guy Laroche au XIVe Congrès français de Médecine (Bruxelles 1920).

L'existence pour ainsi dire constante de l'hypertension artérielle et de l'hypercholestérinémie chez les malades atteints de rétinite à plaques blanches permet de concevoir la genèse de cette affection. L'hypertension artérielle favorise les hémorragies locales rétiniennes, qui s'infiltrent d'autant plus aisément de cholestérine que la teneur du sang en cette substance est plus augmentée. A l'hypertension générale, vient s'ajouter un autre facteur : les troubles circulatoires locaux, déterminés par l'hypertension du liquide céphalo-rachidien et qui dans les formes de début se traduisent par la stase vasculaire, l'œdème péripapillaire et l'exsudation fibrineuse. C'est à la faveur de ces lésions rétiniennes qui constituent autant de points d'appel pour les substances colloïdales du sérum que viennent se fixer par adsorption les lipoïdes et en particulier la cholestérine et ses éthers en excès dans le sang circulant. Telle est l'interprétation qu'a proposée le premier M. le Pr Chauffard.

LA CHOLESTÉRINÉMIE DANS LE DIABÈTE

Le diabète s'accompagne parfois d'hypercholestérinémie, mais celle-ci est beaucoup moins fréquente que dans l'ictère ou le mal de Bright.

L'hypercholestérinémie des diabétiques n'est qu'un des éléments de la lipémie qu'on observe parfois au cours de cette maladie. Elle accompagne cette lipémie et peut jusqu'à un certain point lui servir de témoin.

Il n'existe par contre chez le diabétique aucune relation directe entre la glycémie ou l'acétonémie et la cholestérinémie.

Chez les malades atteints de *rétinite diabétique*, l'hypercholestérinémie est très fréquente. Sur les 8 cas mentionnés dans notre rapport avec A. Chauffard et Guy Laroche sur les lipoïdes en pathologie et présenté au XIVe Congrès français de Médecine (Bruxelles, 1920), nous l'avons vu exister 5 fois. Cette hypercholestérinémie coexiste ici comme dans la rétinite brightique avec une hypertension artérielle également fréquente. Les mêmes causes humorales qui régissent la rétinite brightique se retrouvent ainsi à la base de la rétinite diabétique. Ces faits ont permis à M. le Pr Chauffard de concevoir l'unité pathogénique de ces deux affections et de les comprendre parmi les

dépôts locaux de cholestérine. La fixation au niveau de la rétine de la cholestérine et des lipoïdes en excès dans le sang est favorisée ici comme dans la rétinite brightique par les lésions rétiniennes locales que détermine l'hypertension.

LA CHOLESTÉRINÉMIE DANS LES AFFECTIONS HÉPATIQUES

Dans la *cirrhose du foie,* qu'il s'agisse de la cirrhose de Hanot ou de la cirrhose de Laënnec, le taux de la cholestérinémie reste normal, sauf parfois à la période de cachexie où peut s'observer un abaissement léger.

Par contre dans l'*ictère par rétention,* quelle que soit la nature de cette rétention, l'hypercholestérinémie est constante. Son taux habituel est de 3 à 4 grammes par litre de sérum, mais elle peut s'élever beaucoup plus haut et nous l'avons vu atteindre dans un cas 15gr,60. D'une manière générale le taux de l'hypercholestérinémie est proportionnel au degré de la rétention biliaire, sans que toutefois on puisse établir de règle absolue à ce sujet.

La cholestérinémie reste normale dans l'*ictère hémolytique* congénital ou acquis.

Dans la *lithiase biliaire,* même en dehors des périodes ictériques, la cholestérine est dans la règle très élevée. C'est là, comme l'a montré M. le Pr Chauffard, une notion qui peut fournir un appoint très utile dans le diagnostic des formes frustes et des cas douteux. Nous verrons plus loin le rôle que joue cette hypercholestérinémie dans le processus lithiasique.

L'ensemble de nos recherches sur la cholestérinémie des ictériques et des cholélithiasiques a été contrôlé et pleinement confirmé par Mauriac et Delaye, Widal, Weill et Laudat, Klinkert, Hugo Pribram, Bacmeister et Havers, Obakevitch, Julius Bauer et Karl Skutezky, Edroin Henes, G. Mc. Nee, etc.

Dans le *xanthelasma,* l'hypercholestérinémie est la règle, qu'il s'agisse de xanthelasma des paupières ou de xanthome généralisé, que l'on ait affaire à la variété hépatique ou à la variété diabétique. Les chiffres trouvés oscillent entre 5 et 6 grammes par litre dans le xanthome généralisé et sont en général un peu moins élevés pour le xanthelasma palpébral. D'autre part, l'examen histologique comme les

dosages chimiques révèlent l'existence au niveau du nodule xanthomateux d'une abondante quantité d'éthers de la cholestérine.

M. le Pr Chauffard a mis en évidence la relation qui unit l'hypercholestérinémie des xanthomateux à la lésion cutanée cholestérinique. Dans une série d'articles, il montra que la lésion du xanthelasma ou du xanthome n'est ni une néoplasie, ni une dégénérescence, mais doit être considérée comme un simple dépôt local de cholestérine, comme un *tophus cholestérinique* de la peau ayant la même valeur pathogénique que le tophus goutteux.

LA CHOLESTÉRINÉMIE DANS LA DIATHÈSE URIQUE

En dehors de l'augmentation de l'acide urique du sang, il existe dans la diathèse urique une augmentation de la cholestérinémie qui n'avait pas encore été mentionnée et sur laquelle nous avons attiré l'attention avec A. Chauffard et P. Brodin. Les chiffres de cholestérinémie que nous avons observés dans la goutte et dans la gravelle sont dans la règle supérieurs à 2 grammes par litre de sérum et atteignent fréquemment 2gr,50 à 3 grammes. Quant à l'origine de cette hypercholestérinémie, il est possible que l'insuffisance rénale fréquente au cours de la goutte et de la gravelle joue un rôle dans sa genèse, mais nous pensons que la plus grande part revient à l'insuffisance hépatique qui est de règle dans ces affections.

L'hypercholestérinémie des graveleux fait comprendre ce fait connu, mais resté jusqu'à présent sans explication de l'association fréquente, chez le même malade, des calculs biliaires et urinaires, l'hypercholestérinémie conduisant à la lithiase biliaire et l'hyperuricémie à la lithiase urinaire.

Chez le goutteux, l'hypercholestérinémie explique les associations du xanthelasma et de la lithiase biliaire à la goutte. Elle se reflète dans la composition chimique du tophus goutteux qui en dehors du dépôt uratique contient une forte proportion de cholestérine. A. Chauffard et J. Troisier ont montré en effet que le tophus goutteux ne devait plus être considéré comme un simple dépôt d'acide urique, mais comme un tophus mixte à la fois uratique et cholestérinique relevant des deux adultérations chimiques du sang.

LES ORIGINES DE LA CHOLESTÉRINE DE L'ORGANISME

Fonction cholestérinigénique du corps jaune. — Preuves histologiques (En coll. avec A. Chauffard et Guy Laroche). *Société de Biologie,* 27 janvier 1912; p. 223.

Fonction cholestérinique du corps jaune. — Preuves chimiques (En coll. avec A. Chauffard et Guy Laroche). *Société de Biologie,* 17 février 1912, p. 265.

Fonction cholestérinique du corps jaune (En coll. avec A. Chauffard et Guy Laroche). *Archives mensuelles d'obstétrique et de gynécologie,* 5 mai 1912.

De la teneur en cholestérine des capsules surrénales dans différents états pathologiques (En coll. avec A. Chauffard et Guy Laroche). *Société de Biologie,* 6 juillet 1912, p. 23.

L'hypercholestérinémie d'origine surrénale (En coll. avec Jean Troisier). *XIII[e] Congrès français de médecine,* Paris, octobre 1912.

Sur l'origine de la cholestérine et la valeur de la théorie de Flint (En coll. avec Guy Laroche). *Société de Biologie,* 26 octobre 1912, p. 413.

Contribution à l'étude de l'origine endocrine de la cholestérine sanguine. L'hypercholestérinémie d'origine surrénale (En coll. avec Jean Troisier). *Presse médicale,* 28 décembre 1912.

Nouvelles recherches sur la teneur en cholestérine des capsules surrénales au cours des différents états pathologiques (En coll. avec A. Chauffard et Guy Laroche). *Société de Biologie,* 28 mars 1914, p. 529.

La teneur en cholestérine des capsules surénales aux différents stades de la vie fœtale (En coll. avec A. Chauffard et Guy Laroche). *Société de Biologie,* 26 janvier 1918, p. 87.

La cholestérine du sang, comme nous l'avons vu, tire en partie son origine de la cholestérine contenue dans l'alimentation. Mais si l'on considère l'énorme disproportion qui existe dans certaines conditions entre l'apparition d'une quantité considérable de cholestérine dans l'organisme (sang et organes) et la teneur relativement faible en cholestérine du régime alimentaire, on est obligé d'admettre la

formation d'une proportion importante de cholestérine dans l'organisme. C'est ce que nous avons vu se produire à la suite de repas riches en beurre et pauvres en cholestérine; c'est également ce qui a lieu dans certaines catégories d'hypercholestérinémies pathologiques : les hypercholestérinémies par hyperproduction.

Les travaux de Lifschütz tendent à prouver que les graisses peuvent produire la cholestérine par transformation. Il est à remarquer que les graisses ne font jamais défaut à l'organisme pour réaliser la synthèse de la cholestérine, soit qu'elles soient apportées par l'alimentation, soit qu'elles résultent d'un trouble du métabolisme; les hypercholestérinémies, en effet, comme nous l'avons montré, s'accompagnent toujours d'une certaine lipémie, plus ou moins prononcée selon les cas et selon les variétés.

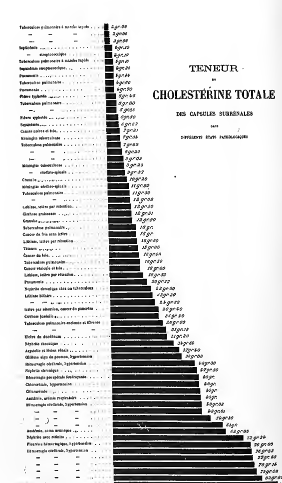
Ces considérations nous incitaient à rechercher les lieux de formation de la cholestérine dans l'organisme. Les recherches poursuivies à ce sujet avec A. Chauffard et Guy Laroche, nous ont permis de situer au niveau de la glande surrénale et du corps jaune les deux centres principaux d'origine de la cholestérine du sang. Sans doute, d'autres glandes endocrines, la thyroïde, en particulier, peuvent probablement intervenir dans la cholestérinigenèse, mais leur rôle est beaucoup plus restreint.

Avant nos recherches, la plupart des auteurs admettaient que la cholestérine du sang tirait son origine du cerveau. Flint avait cru donner une preuve à cette théorie en montrant que le sang de la veine jugulaire, qui vient du cerveau, contient plus de cholestérine que le sang de l'artère carotide. Mais le procédé de dosage qu'il employait était passible de nombreuses causes d'erreur. J'ai repris ces recherches avec Guy Laroche et j'ai montré à l'aide de la méthode de dosage qui m'est personnelle que le sang de la veine jugulaire contient exactement autant de cholestérine que le sang de l'artère carotide.

FONCTION CHOLESTÉRINIGÉNIQUE DE LA GLANDE SURRÉNALE

La capsule surrénale est l'organe le plus riche en cholestérine de l'organisme. Déjà les recherches histologiques avaient signalé dans la substance corticale de cet organe de nombreuses granulations biréfringentes que les réactions microchimiques (coloration par le Soudan III et le Nilblau, absence de coloration par le Neutralrot) montraient formées en grande partie d'éthers de la cholestérine. Par des dosages chimiques pratiqués sur des surrénales provenant d'individus morts brusquement nous avons pu fixer aux environs de 45 grammes chez l'homme et de 55 grammes chez la femme le taux moyen normal de la cholestérine pour 1 000 grammes de glande fraîche. Ce taux est beaucoup plus bas si l'on s'adresse aux surrénales prélevées sur les individus autopsiés dans les hôpitaux et ici le chiffre moyen pour les surrénales non touchées par la maladie est de 20 grammes pour 1 000 grammes d'organe. L'explication de cette divergence doit être recherchée, semble-t-il, dans un certain épuisement des lipoïdes de la corticalité surrénale pendant la période plus ou moins longue de l'agonie.

L'étude des variations de la teneur en cholestérine des capsules surrénales au cours des différentes maladies est des plus significative en ce qui concerne l'origine de la cholestérine sanguine. C'est par cette enquête poursuivie en collaboration avec A. Chauffard et Guy Laroche sur les surrénales prélevées aux autopsies que nous avons commencé nos recherches dans cette direction. Nos résultats consignés dans le tableau ci-contre sont d'une concordance parfaite et montrent le parallélisme étroit qui existe pour la plupart des maladies entre la teneur en cholestérine des capsules surrénales et le taux de la cholestérinémie. Aux chiffres les plus faibles du tableau correspondent les infections, maladies qui évoluent avec un chiffre très abaissé de cholestérine dans le sang, aux chiffres les plus forts correspondent les brightiques, les hypertendus, les gravidiques, chez lesquels l'hypercholestérinémie comme nous l'avons vu est souvent très prononcée. Seule fait exception à cette règle l'hypercholestérinémie des ictériques où, malgré les taux élevés de cholestérine dans


TENEUR
EN
CHOLESTÉRINE TOTALE
DES CAPSULES SURRÉNALES
DANS
DIFFÉRENTS ÉTATS PATHOLOGIQUES
Tuberculose pulmonaire à marche rapide 2gr.08
— — — 2gr.86
— — — 2gr.98
Septicémie 4gr.10
— streptococcique 4gr.10
Tuberculose pulmonaire à marche rapide 4gr.16
Septicémie streptococcique 4gr.26
Pneumonie 4gr.44
Tuberculose pulmonaire 4gr.60
Pneumonie 4gr.70
Fièvre typhoïde 5gr.45
Tuberculose pulmonaire 5gr.80
— — 5gr.86
Fièvre typhoïde 6gr.50
Septicémie 6gr.67
Cancer utérus et foie 7gr.21
Méningite tuberculeuse 7gr.34
Tuberculose pulmonaire 7gr.82
— — 8gr.20
— — 9gr.09
Méningite tuberculeuse 9gr.23
— cérébro-spinale 9gr.37
Granulie 10gr.20
Méningite cérébro-spinale 11gr.50
Tuberculose pulmonaire 11gr.90
— — 12gr.02
Lithiase, ictère par rétention 12gr.20
Cirrhose graisseuse 12gr.31
Granulie 12gr.80
Tuberculose pulmonaire 15gr.
Cancer du foie sans ictère 15gr.
Lithiase, ictère par rétention 15gr.60
Tétanos 15gr.80
Cancer du foie 16gr.08
Tuberculose pulmonaire 16gr.50
Cancer vésicule et foie 16gr.60
Lithiase, ictère par rétention 18gr.50
Pneumonie 20gr.17
Néphrite chronique chez un tuberculeux 22gr.80
Lithiase biliaire 23gr.20
— — 24gr.58
Ictère par rétention, cancer du pancréas 25gr.40
Cirrhose juvénile 26gr.40
Tuberculose pulmonaire ancienne et fibreuse 28gr.60
— — — — 31gr.15
Ulcère du duodénum 31gr.20
Néphrite chronique 34gr.64
Asystolie et lésion rénale 37gr.40
Œdème aigu du poumon, hypertension 38gr.88
Hémorragie cérébrale, hypertension 46gr.30
Néphrite chronique 47gr.50
Hémorragie puerpérale foudroyante 48gr.
Chlorurémie, hypertension 48gr.
Chlorurémie 49gr.
Azotémie, urémie respiratoire 49gr.
Hémorragie cérébrale, hypertension 49gr.32
— — — 49gr.61
— — — 54gr.30
— — — 61gr.
Azotémie, coma urémique 62gr.85
Néphrite avec rétinite 72gr.34
Pleurésie hémorragique, hypertension 76gr.60
Hémorragie cérébrale, hypertension 76gr.83
— — — 77gr.63
— — — 78gr.14
— — — 79gr.68
— — — 82gr.80
Artériosclérose 91gr.20
Teneur en cholestérine de 1 000 gr de surrénale fraîche
0 gr. 10 gr. 20 gr. 30 gr. 40 gr. 50 gr. 60 gr. 70 gr. 80 gr. 90 gr. 100 gr.

le sang, la teneur en cholestérine de la glande surrénale reste normale. Mais il s'agit là d'une hypercholestérinémie de nature spéciale liée comme nous l'avons montré au trouble de la fonction biliaire.

La question était de savoir si les surcharges cholestériniques de la surrénale que nous avons signalées dans différentes maladies n'étaient que de simples dépôts de cholestérine analogues aux nodules xanthélasmiques et aux plaques blanches des rétinites, ou si elles relevaient au contraire d'un *processus local de cholestérinigenèse*. Pour nous, il n'y a jamais eu de doute à ce sujet et nous nous sommes ralliés immédiatement à la seconde hypothèse contrôlée et vérifiée depuis par de nombreux observateurs.

Tout d'abord, à ne regarder que le simple aspect histologique de l'écorce surrénale, on peut voir que l'augmentation des lipoïdes s'accompagne de signes d'activité des cellules qui les renferment. Dans les états physiologiques et pathologiques au cours desquels la cholestérine surrénale est abondante, les cellules corticales augmentent de nombre et de taille, il y a des karyokinèses, on peut voir se produire des adénomes, tous phénomènes histologiques, qui sont le signe d'une réaction active du tissu glandulaire. Par contre dans l'infection, où le taux de la cholestérine surrénale est très abaissé, le protoplasma des cellules devient granuleux et abandonne son aspect spongiocytaire, les noyaux se pycnosent et perdent peu à peu leurs propriétés tinctoriales.

Les recherches chimiques auxquelles nous avons procédé par la suite dans le domaine de l'*embryologie* et de la *physiologie* viennent confirmer ces premières données tirées de la pathologie.

Chez le fœtus, comme le montrent nos dosages rapportés dans le tableau ci-contre, la teneur en cholestérine des capsules surrénales augmente à mesure que l'organe se développe et se rapproche de son fonctionnement normal. Égal à 2gr,50 environ au 3e mois de la vie intra-utérine, le taux pour mille en cholestérine de surrénale fœtale augmente progressivement pour atteindre 35 grammes environ à la parturition. Cette progression s'accomplit à mesure que se manifestent les signes histologiques du fonctionnement glandulaire. Au 3e mois de la vie fœtale les gouttelettes graisseuses anisotropes de la corticalité surrénale sont encore très rares, mais elles deviennent de plus en plus nombreuses à mesure qu'on se rapproche de la naissance.

Teneur en cholestérine des capsules surrénales du foie et du rein chez le fœtus et le nouveau-né

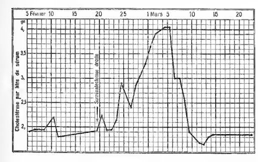
AGE	POIDS DES SURRÉNALES	TENEUR EN CHOLESTÉRINE POUR MILLE GRAMMES DE SUBSTANCE FRAICHE		
		Surrénales	Rein	Foie
Fœtus de 3 mois..	0,23	2,60	2,14	»
Fœtus de 4 mois..	0,46	3,14	2,21	»
Fœtus de 4 mois 1/2. . . .	0,85	2,94	2,21	2,50
Fœtus de 7 mois..	4,20	8,16	»	2,42
Nouveau-né à terme	»	14,05	2,67	»
Nouveau-né à terme.. . . .	6,30	14,70	2,58	2,67
Nouveau-né à terme.. . . .	6,16	35,90	2,58	2,55
Nouveau-né à 2 jours. . . .	»	36,10	2,90	»

Ce développement particulier qui traduit l'éveil progressif de l'activité lipoïdigénique est spéciale à la surrénale ; toute autre est l'évolution dans le cas des organes non producteurs de cholestérine. Le tableau ci-dessus montre par exemple que le foie et le rein acquièrent d'emblée leur taux maximum en cholestérine, taux qui correspond à celui de l'âge adulte et qui est remarquable par sa fixité. Il s'agit là de simples *lipoïdes de constitution cellulaire,* répartis d'une manière diffuse dans la cellule et qui sont à opposer aux *lipoïdes de secrétion,* concrétés sous formes d'enclaves.

Dans la surrénale, on peut considérer deux stades distincts dans l'évolution de la glande : une première période caractérisée par la constance du taux cholestérinique égal à celui du foie et du rein et dans laquelle la surrénale ne contient que de la cholestérine diffuse ; il semble bien qu'il s'agisse là comme pour les autres organes de lipoïdes de constitution cellulaire ; une seconde période, caractérisée par l'augmentation de la cholestérine, l'apparition des enclaves et qui marque le développement de l'activité cholestérinigénique de l'organe.

La physiologie par ailleurs nous a donné une preuve directe de la relation étroite qui unit le fonctionnement cholestérinigénique de la surrénale et le taux de la cholestérinémie. Procédant à la surrénalectomie unilatérale chez le chien, j'ai pu noter en collaboration avec Jean Troisier qu'il n'y avait aucune modification du taux de la cholestérinémie pendant les 3 ou 4 jours qui suivent l'opération. Mais passé ce délai, la courbe de la cholestérine sanguine s'élève jusqu'à

doubler ou tripler et se maintient élevée pendant une douzaine de jours pour revenir ensuite à la normale. Parfois, chez certains animaux, après un abaissement momentané, la courbe se relève une seconde fois avant de se fixer définitivement à la normale. L'extirpation d'autres organes et en particulier la néphrectomie unilatérale, la splénectomie, la pancréatectomie partielle ne sont pas suivies de semblable réaction. Seule la thyroïdectomie unilatérale nous a paru déterminer une hypercholestérinémie, moins accentuée



Hypercholestérinémie consécutive à la surrénalectomie unilatérale chez le chien.

il est vrai que celle de la surrénalectomie, mais dont l'évolution est analogue.

Comme on le sait depuis les travaux d'Oppenheim et de Ciaccio, la surrénalectomie unilatérale provoque une réaction hyperplasique de la surrénale restée en place où se manifeste une activité cellulaire intense aboutissant à une abondante sécrétion lipoïdique. L'hypercholestérinémie que nous avons vu évoluer chez le chien monodécapsulé est contemporaine de cette hyperactivité glandulaire surrénale. Ces faits montrent la répercussion de la suractivité lipoïdigénique de la surrénale sur le taux de la cholestérinémie et mettent en évidence le rôle de cette glande dans la genèse de la cholestérine sanguine.

FONCTION CHOLESTÉRINIGÉNIQUE DU CORPS JAUNE

Dans la gravidité l'hypercholestérinémie est en rapport avec une abondante sécrétion lipoïdique de la surrénale telle que l'ont montré nos recherches chimiques jointes aux travaux histologiques antérieurs. Nous avons pu mettre en évidence avec A. Chauffard et Guy Laroche un second centre de cholestérinigenèse dans l'organisme maternel : le corps jaune.

Déjà les travaux histologiques avaient permis de constater dans la cellule du corps jaune des granulations graisseuses extrêmement abondantes. Mulon avaient montré que ces graisses étaient analogues à celles de la surrénale et de la glande interstitielle de l'ovaire et du testicule. A l'aide de colorants électifs : Nilblau, Soudan III, Neutralrot, nous avons pu déceler dans ces graisses la présence d'éthers de la cholestérine.

Mais les renseignements fournis par l'histologie pure ne donnaient pas une idée exacte de la quantité de cholestérine contenue dans le corps jaune et de la courbe évolutive de cette substance en fonction du développement de la glande. Nous avons eu recours alors aux dosages chimiques.

Nos recherches sur les ovaires et corps jaunes de truie, de vache et de brebis nous ont permis de voir que la richesse en cholestérine du corps jaune s'accentuait à mesure que s'organisait la glande et que se manifestaient avec plus d'apparence les signes d'activité cellulaire. C'est ainsi que dans l'évolution du corps jaune de la truie nous avons distingué trois stades anatomiques et chimiques correspondant à des activités différentes de l'organe :

1° *Stade initial hémorragique.* — La teneur moyenne en cholestérine est encore peu différente de celle du sang et les chiffres que nous avons vu osciller entre 1^{gr},27 et 2^{gr},97 donnent un taux moyen de 1^{gr},99.

2° *Stade de maturité.* — Corps jaune rare, encore mou, mais entièrement parenchymateux ; chiffres extrêmes ; 4^{gr},65 et 9^{gr},96 ; chiffre moyen 5^{gr},84.

3° *Stade de régression.* — Corps jaune d'un blanc plus ou moins

jaunâtre, de consistance ferme et de volume très réduit, chiffres extrêmes : 6gr,51 et 18gr,88. Teneur moyenne : 10gr,92.

L'interprétation des faits précédents ne comporte que deux hypothèses, suivant que l'on admet un simple dépôt local, ou au contraire une sécrétion glandulaire active, mais ici l'histologie reprend ses droits, nous montrant que les cellules du corps jaune présentent tous les caractères d'organites glandulaires à vitalité très puissante, pour lesquels la sécrétion lipoïdique apparaît comme une fonction initiale et dont la durée reconnaît les mêmes limites que la survivance de la cellule.

LA DESTINÉE DE LA CHOLESTÉRINE
DE L'ORGANISME

Recherches sur l'origine de la cholestérine biliaire (En coll. avec A. Chauffard et Guy Laroche). *Société de Biologie*, 10 mai 1913, p. 1005.

Recherches expérimentales sur la cholestérinémie après ligature du cholédoque (En coll. avec A. Chauffard et Guy Laroche). *Société de Biologie*, 24 mai 1913, p. 1093.

Le Cycle de la cholestérinémie. *Thèse de doctorat en médecine*, Paris, 1913.

Le Cycle de la cholestérine dans l'organisme (En coll. avec A. Chauffard et Guy Laroche). *Annales de médecine*, n° 3, septembre 1920, p. 149.

ÉLIMINATION HÉPATIQUE DE LA CHOLESTÉRINE DU SANG FORMATION DE L'ACIDE CHOLALIQUE

Les observations recueillies sur les malades nous avaient permis de classer en deux grandes catégories les hypercholestérinémies observées en clinique :

1° *Les hypercholestérinémies par hypergenèse* en rapport direct avec une activité exagérée des centres producteurs de cholestérine (surrénale et corps jaune).

2° *Les hypercholestérinémies par rétention* liées au défaut d'élimination de la cholestérine par le foie, telles sont les hypercholestérinémies des ictériques. Chez ces malades, les centres producteurs de cholestérine ne manifestent aucune activité exagérée et l'hypercholestérinémie rétrocède dès que se rétablit la sécrétion biliaire.

La genèse de l'hypercholestérinémie par rétention peut être mise en évidence d'une manière très simple par l'expérience de la ligature du cholédoque comme l'ont montré les recherches que j'ai poursuivies avec A. Chauffard et Guy Laroche. Consécutivement à la ligature

basse du cholédoque chez le chien, nous avons vu rapidement s'installer une hypercholestérinémie. Cette hypercholestérinémie évolue d'une manière sensiblement parallèle à la rétention des autres éléments de la bile ; elle atteint son maximum aux environs du vingtième jour après l'opération et rétrocède dès que l'obstacle hépatique est levé.

Nous avons constaté une évolution semblable de la cholestérinémie chez les malades atteints d'ictère par rétention. Lorsque l'ictère augmente la cholestérine du sang augmente ; elle rétrocède ensuite pour revenir progressivement à la normale lorsque l'ictère disparaît.

Ces faits indiquent nettement le rôle primordial que joue le foie dans l'élimination de la cholestérine sanguine, mais ils ne nous renseignent pas sur le mécanisme intime de cette élimination. L'étude du bilan de la cholestérine dans l'ictère m'a permis d'apporter quelques précisions à ce sujet.

Ces recherches ont été poursuivies sur des malades ictériques mis aimablement à ma disposition par M. le Pr Quénu et chez lesquels une fistule biliaire était pratiquée. J'ai pu ainsi suivre en série les progrès de l'élimination de la cholestérine du sang par le foie et son retentissement sur la composition chimique de la bile. Voici à titre d'exemple une observation qui peut servir de type :

N..., 55 ans, entre à Cochin le 7 novembre 1910 pour coliques hépatiques qui sauf quelques intervalles de rémission lui durent depuis le mois d'août. A l'entrée le malade à un ictère très prononcé avec décoloration fécale. Le 22 novembre, on l'opère ; on lui retire 7 calculs de la vésicule et on lui maintient une fistule biliaire. La bile qui s'écoule est soigneusement recueillie chaque jour et après prise d'essai de quelques centimètres cubes pour analyse, restituée au malade sous forme de lavement. Au bout de un mois, la fistule biliaire est fermée, le malade quitte l'hôpital ne souffrant plus et ne présentant plus d'ictère.

Le dosage de la cholestérine pratiqué périodiquement dans le sérum a donné les chiffres suivants :

		TAUX DE LA CHOLESTÉRINÉMIE
7 novembre.	Ictère intense, décoloration fécale. . .	4 gr. 30
22 novembre.	id. Établissement d'une fistule biliaire.	4 gr. 20
27 novembre.	Le malade déjaunit.	3 gr. 40
2 décembre.	Le malade continue à déjaunir. . . .	2 gr. 60
7 décembre.	L'ictère a totalement disparu. . . .	1 gr. 80

Le dosage de la cholestérine biliaire a donné un chiffre *quotidien* oscillant entre 0gr,28 et 0gr,36.

En examinant ces résultats on ne peut qu'être frappé de l'énorme disproportion qui existe entre le chiffre considérable de cholestérine éliminée par voie hépatique pendant la rétrocession de l'ictère et le chiffre très faible retrouvé dans la bile. On est ainsi porté à croire qu'une partie importante de la cholestérine s'élimine par le foie non pas à l'état de cholestérine, mais sous forme d'un produit de transformation, et les relations chimiques qui unissent la cholestérine à l'acide cholalique autorisent à penser qu'il s'agit de ce dernier. L'acide cholalique, noyau commun des sels biliaires proviendrait ainsi d'une transformation hépatique de la cholestérine par voie d'oxydation. Chez les sélaciens, le fait d'ailleurs est probant, puisque, comme l'a montré Hammarsten, le noyau des sels biliaires est directement constitué par des homologues supérieurs de la cholestérine.

L'ensemble de ces considérations comporte déjà des arguments sérieux en faveur d'une *origine cholestérinique de l'acide cholalique biliaire, par transformation au niveau de la cellule hépatique de la cholestérine du sang*. Si cette théorie que j'ai émise est vraie, on doit observer une diminution de production de l'acide cholalique dans le cas de rétention de la cholestérine dans l'organisme (hypercholestérinémie par rétention) et au contraire une augmentation de production lorsque, comme au décours de l'ictère par rétention, la cholestérine s'élimine abondamment par le foie. C'est précisément ce qui a lieu. On sait en effet que la quantité de sels biliaires de l'organisme qui, normalement, est de 8 à 10 grammes s'abaisse considérablement dans la période d'état de l'ictère par rétention, au point de n'être plus que de quelques centigrammes. Par contre, comme j'ai pu le constater, la teneur en sels biliaires de la bile atteint des proportions considérables lorsque la sécrétion biliaire se rétablit et que rétrocède l'hypercholestérinémie.

*
* *

Ceci étant posé, on peut se demander d'où vient la cholestérine non transformée qu'on trouve dans la bile. S'agit-il d'une sécrétion hépatique de la cholestérine du sang ou provient-elle, comme le veulent

la plupart des auteurs, d'une sécrétion épithéliale des canaux biliaires ?

En examinant au microscope la bile et les parois biliaires, on trouve à côté de granulations graisseuses monoréfringentes, des granulations biréfringentes riches en cholestérine, mais l'accord est loin d'être fait sur la signification de ces granulations et sur leur localisation. Pour Naunyn, il s'agit d'une desquamation de l'épithélium biliaire ; pour Aschoff et Baemeister les granulations qu'on trouve dans les cellules vésiculaires relèvent d'une résorption graisseuse vitale.

Au cours de nos recherches chez le chien avec A. Chauffard et Guy Laroche, nous avons retrouvé ces granulations dans tout l'arbre biliaire (épithélium vésiculaire, canaux et canalicules). La plupart étaient monoréfringentes, mais on constatait nettement des granulations biréfringentes mêlées à elles, rares dans la vésicule et les gros canaux, très nombreuses dans les cellules des canaux biliaires. Dans la cellule hépatique les granulations biréfringentes étaient peu abondantes.

Chez le chien ayant subi l'opération de la ligature du cholédoque, les granulations faisaient défaut ou étaient très rares dans les canaux biliaires. Exception doit être faite cependant dans le cas où il existait un cholépéritoine post-opératoire et où les granulations étaient très abondantes dans toute la hauteur du tractus biliaire.

D'après ces expériences les granulations constatées dans l'épithélium canaliculaire ne semblent pas dues à une résorption intrabiliaire comme le croient Aschoff et Baemeister? La preuve nous en paraît donnée par ce fait que, chez les chiens en rétention biliaire par ligature du cholédoque, on ne peut constater aucune granulation, alors que les conditions les plus favorables à la résorption sont réalisées. Par contre, quand la ligature du cholédoque cède, qu'un cholépéritoine se forme et que la sécrétion biliaire se rétablit librement, les granulations graisseuses et lipoïdiques apparaissent.

Dans l'état actuel de la science, il paraît donc vraisemblable d'admettre que la cholestérine et les graisses de la bile proviennent d'une sécrétion épithéliale des canaux biliaires, et il semble que celle-ci trouve son siège d'élection au niveau des radicules biliaires et de la cellule hépatique.

SÉCRÉTION PLACENTAIRE DE LA CHOLESTÉRINE CHEZ LA FEMME GRAVIDE

Tandis que normalement la seule voie d'élimination de la cholestérine de l'organisme est le foie ; au cours de la grossesse, une seconde dérivation s'installe par l'intermédiaire du *placenta*.

On sait que le fœtus durant son développement a besoin de quantités énormes de substances lipoïdiques nécessaires à la formation de ses centres nerveux. Ces besoins de l'organisme fœtal ne peuvent être satisfaits que par deux processus généraux : apport provenant du sang maternel avec, comme intermédiaire, la glande placentaire ; formation sur place dans les parenchymes lipoïdogènes du fœtus. Nous avons montré avec A. Chauffard et Guy Laroche que les centres cholestérinigènes du fœtus (surrénales) se constituent progressivement et n'acquièrent qu'au voisinage de la parturition leur complet développement sécrétoire. C'est donc surtout par voie de sécrétion placentaire que, tout au moins pendant les premiers mois de la vie intra-utérine, l'organisme fœtal reçoit la cholestérine nécessaire à l'édification de ses tissus.

Contrairement à ce qu'ont affirmé certains auteurs, le placenta ne présente pas de grosses variations dans sa teneur en cholestérine aux différentes époques de la gestation. D'après Sakaki, les éthers de la cholestérine seraient plus abondants dans les quatre premiers mois que dans le dernier mois de la grossesse ; dans le premier mois, le placenta serait dix fois plus riche en cholestérine qu'à la maturité.

Les résultats que nous avons obtenus avec A. Chauffard et Guy Laroche dans le cas du placenta humain examiné aux différentes périodes de la gestation ne confirment pas les données de Sakaki. Nous avons trouvé que la teneur en cholestérine du placenta reste à peu près constante durant la grossesse, aux environs de 2^{gr},50. Ce chiffre est, par son taux et sa constance, à rapprocher de ceux du rein et du foie qui ne varient pas non plus. Il s'agit là de lipoïdes de constitution tissulaire.

Nous avons comparé d'autre part la teneur en cholestérine du sang maternel à celle du sang de la *veine ombilicale*. Chez 14 femmes en

couches, nous avons dosé la cholestérine du sérum provenant du sang qui s'écoule de l'extrémité placentaire du cordon ombilical sectionné avant la délivrance. Le sang ainsi examiné correspond au sang de la veine ombilicale qui se rend du placenta au fœtus. Le chiffre le plus élevé a été de $0^{gr},85$, le plus faible de $0^{gr},55$ pour 1 000. Ces variations individuelles nous ont paru n'avoir aucun rapport avec le taux plus ou moins élevé de la cholestérine maternelle. Des dosages ultérieurs de Klinkert ont apporté la confirmation de ces premiers résultats.

La cholestérinémie de la veine ombilicale est donc beaucoup plus faible que la cholestérinémie maternelle, bien qu'elle atteigne encore un degré assez élevé et *reste supérieure à un simple échange dialytique*. Par comparaison le liquide amniotique qui n'a que la valeur d'un transsudat dialytique, possède une teneur moyenne en cholestérine de $0^{gr},08$ pour 1 000, très comparable à celle que nous avons notée dans la sérosité d'œdème, autre transsudat dialytique. Ces faits montrent la part active que prend le placenta dans la transmission de la cholestérine de la mère au fœtus et permettent de lui assigner un *rôle sécréteur* véritable en ce qui concerne la cholestérine fœtale.

Dans une autre série d'expériences, nous avons pu voir avec A. Chauffard et Guy Laroche que le sang de la veine ombilicale qui va du placenta au fœtus est plus riche en cholestérine que le sang des artères ombilicales qui suit une marche inverse. Voici trois cas où nous avons dosé comparativement chez des nouveau-nés, immédiatement après l'accouchement, le sérum de la veine et des artères ombilicales.

	SÉRUM DE L'ARTÈRE OMBILICALE	SÉRUM DE LA VEINE OMBILICALE
I.	o gr. 95 pour 1000.	1 gr. 07 pour 1000.
II.	o gr. 67 —	o gr. 75 —
III.	o gr. 84 —	o gr. 94 —

Ces faits apportent la preuve de la fixation par le fœtus de la cholestérine maternelle. Ils sont à opposer à ce qui se passe dans le cas de l'urée où au contraire le sang qui revient du fœtus est plus chargé en cet élément que celui qui y va. C'est que cholestérine et urée n'ont pas la même signification dans l'organisme ; la cholestérine est une substance de constitution tissulaire nécessaire à l'édification des cellules, tandis que l'urée est un déchet inutile dont l'organisme se débarrasse.

PATHOGÉNIE DE LA LITHIASE BILIAIRE

Le cycle de la cholestérinémie. *Thèse* de doctorat en médecine, Paris, 1913.

J'ai montré dans ma thèse de doctorat en médecine que l'une des fonctions de la cellule hépatique consiste en l'élimination de la cholestérine du sang après transformation en acide cholalique noyau des sels biliaires.

Il est certains cas pathologiques (ictère par rétention, lithiase biliaire) dans lesquels cette fonction hépatique est troublée. On assiste alors à une rétention de la cholestérine dans l'organisme (*hypercholestérinémie*); en même temps la cellule hépatique ne trouvant plus à sa disposition la cholestérine nécessaire à la formation des sels biliaires, ceux-ci apparaissent en moins grande quantité dans la bile (*hypocholalécholie*). L'hypercholestérinémie observée dans ces cas et la diminution corrélative de l'acide cholalique biliaire sont ainsi deux états connexes déterminés par une même cause : le défaut d'élimination de la cholestérine par le foie.

Ces faits sont non seulement intéressants à constater au point de vue physiologique, mais ils éclairent d'un jour nouveau nos connaissances sur la pathogénie de la lithiase biliaire. Les deux états d'*hypercholestérinémie* et d'*hypocholalécholie* qui sont à la base du trouble d'insuffisance hépatique que nous avons décrit, constituent par ailleurs des processus lithogènes particulièrement actifs. L'hypercholestérinémie, en effet, a sa répercussion directe sur le taux de la cholestérine biliaire et nous avons montré avec A. Chauffard et Guy Laroche que les biles vésiculaires prélevées à l'autopsie des sujets hypercholestérinémiques, accusent dans la règle une teneur très élevée en cholestérine. On sait d'autre part que les sels biliaires constituent le principal solvant de la cholestérine biliaire et le processus morbide qui diminue la production de ces substances favorise au suprême

degré la formation de calculs biliaires. *Augmentation de la cholestérine biliaire et diminution des conditions de solubilisation de cet élément dans la bile, telles sont en dernière analyse les conséquences de l'hypercholestérinémie hépatique.*

Le rôle que joue la cellule hépatique dans la genèse de la lithiase biliaire apparaît ainsi nettement. Cette conception nouvelle donne l'explication de l'élément diathésique héréditaire qui tient une place si importante dans la genèse de la lithiase biliaire et qui a pour cause directe l'*insuffisance cholalégénique du foie* ataviquement transmise.

Cette théorie purement chimique que j'ai émise de la pathogénie de la lithiase biliaire n'exclut pas d'ailleurs le rôle toujours possible de l'infection dans le processus lithogène biliaire ; que cette infection agisse par l'intermédiaire de la cellule hépatique qu'elle lèse dans son fonctionnement, ou localement par les perturbations qu'elle peut directement apporter dans l'équilibre chimique de la bile.

II

ACIDE URIQUE

LE DOSAGE DE L'ACIDE URIQUE DANS LE SANG

Le dosage de l'acide urique dans le sang (En coll. avec A. Chauffard et P. Brodin). *Société de Biologie,* 8 mai 1920, p. 672.
Procédé colorimétrique de dosage de l'acide urique dans le sang. *Société de Biologie,* 16 octobre 1920, p. 1273.
Spécificité de la réaction phosphotungstique pour le dosage de l'acide urique. Le rapport des bases xanthiques à l'acide urique. *Société de Biologie,* 9 avril 1921, p. 632.
Le dosage de l'acide urique dans le sang. *Bulletin de la Société de Chimie Biologique,* janvier 1922, t. IV, p. 11.

Les méthodes classiques de dosage de l'acide urique, qui utilisent la formation de précipités insolubles pour la séparation de cet élément, conviennent difficilement à l'analyse du sang. On ne peut en effet songer à employer le procédé Ronchèse, car la solubilité de l'urate d'ammoniaque est telle qu'elle dépasse les proportions normales d'acide urique contenues dans le sérum désalbuminé. Il en est de même de la précipitation directe de l'acide urique sous forme cristallisée. Ce procédé n'a pu donner de résultats positifs entre les mains de Garrod que chez les hyperuricémiques, tandis que chez les sujets normaux la précipitation était nulle. L'urate d'argent et de magnésie est lui-même légèrement soluble. Cette solubilité, qui est de l'ordre du cent-millième, n'entraîne pas une erreur appréciable lorsqu'on agit

sur un liquide relativement riche en acide urique comme l'urine, mais dans le cas du sérum normal l'erreur eneourue se trouve portée à 50 pour 100. C'est ce qui se passe pour le procédé de Folin et Denis où l'acide urique est précipité sous forme d'urate argentico-magnésien pour être évalué ensuite eolorimétriquement au moyen de la réaction phosphotungstique de Folin et Macallum. Au contraire dans le procédé que j'ai indiqué l'acide urique n'est pas séparé pour le dosage et la réaction phosphotungstique est pratiquée *directement* sur le sérum désalbuminé. C'est pourquoi les chiffres obtenus au moyen de ce procédé sont supérieurs à ceux fournis par le procédé Folin et Denis.

ÉTUDE DE LA RÉACTION PHOSPHOTUNGSTIQUE POUR LE DOSAGE DE L'ACIDE URIQUE

Avant de songer au dosage direct de l'acide urique du sang par le réactif phosphotungstique, il fallait s'assurer de la spécificité d'action de ce réactif sur l'acide urique, tout au moins en ee qui concerne le milieu sanguin.

Le réactif phosphotungstique de Folin et Denis se prépare en portant à l'ébullition pendant deux heures, dans un matras muni d'un appareil à réfrigération (entonnoir), un mélange de :

Tungstate de soude pur.	100 grammes.
Acide phosphorique à 60°.	80 cm³.
Eau distillée.	900 cm³.

Laisser refroidir et compléter au litre avec de l'eau distillée.

Pour pratiquer la réaction phosphotungstique mettre en présenee de corps à étudier dissous dans l'eau, le réactif phosphotungstique et un excès de carbonate de soude. On obtient une eoloration bleue avee l'acide urique, les polyphénols et les amino-phénols à groupement aminé fixé sur le noyau ; les monophénols ne réagissent pas.

Il était donc nécessaire de savoir tout d'abord si, en dehors de l'absorption médicamenteuse de phénols, le sang ne contient pas de composés phénoliques capables de donner une coloration avec le

réactif phosphotungstique. Les recherches que j'ai poursuivies tant chez l'individu normal que dans les différents états pathologiques m'ont permis de conclure à l'absence dans le sang de substances étrangères à l'acide urique et capables d'apporter une perturbation dans le dosage direct de l'acide urique par le réactif phosphotungstique. Pour ces recherches le sang désalbuminé par l'acide acétique et la chaleur a été épuisé par l'éther sulfurique, et la liqueur éthérée obtenue agitée avec de l'eau alcalinisée par la soude de manière à faire passer les phénols en solution dans l'eau. Les diverses solutions aqueuses ainsi obtenues n'ont jamais donné aucune réaction avec le réactif phosphotungstique de Folin et Denis, tandis qu'elles se coloraient en vert par le réactif phosphomolybdique des mêmes auteurs, indiquant ainsi l'absence de polyphénols et la présence de monophénols. Des épreuves semblables faites avec l'urine m'ont conduit aux mêmes résultats.

D'autre part, j'ai étudié l'action du réactif phosphotungstique sur différentes substances constituantes du milieu sanguin: albumines, acides aminés, purines, bases pyrimidiques, nucléosides, uréides, créatine, etc. Toutes ces substances à l'exception de l'acide urique, de l'alloxane et de l'alloxantine m'ont donné une réaction négative avec le réactif phosphotungstique.

On peut donc conclure de ces recherches que la réaction bleue fournie par la réaction phosphotungstique appliquée directement au sang correspond à ***l'acide urique et à ses dérivés d'oxydation immédiate l'alloxane et l'alloxantine*** sans rien présumer toutefois de l'état libre ou de combinaison sous lequel se trouvent ces corps.

La réaction phosphotungstique pratiquée ***directement*** sur l'urine des individus normaux ou pathologiques non soumis à une médication à base de purines végétales ou de polyphénols, m'a conduit à des chiffres colorimétriques qui coïncidaient avec ceux du procédé classique de Dénigès par précipitation argentico-magnésienne. Dans le cas d'absorption de polyphénols, les chiffres colorimétriques étaient supérieurs à ceux fournis par le procédé de Dénigès. Au contraire, dans le cas d'absorption de purines végétales (théobromine, caféine), ce sont les chiffres du procédé argentico-magnésien qui étaient les plus élevés.

Ces résultats quantitatifs sont en parfait accord avec les recherches qualitatives rapportées précédemment. Ils montrent que les phé-

nols normalement contenus dans l'organisme n'influent pas sur le dosage colorimétrique de l'acide urique, tandis que les polyphénols administrés comme médicaments augmentent le chiffre colorimétrique. Ce n'est donc qu'en dehors de toute médication polyphénolée que le dosage colorimétrique de l'acide urique peut être envisagé.

Ces expériences montrent en outre que la majeure partie des corps puriques contenus dans l'urine sont à l'état d'acide urique, puisque les chiffres colorimétriques, qui dosent exclusivement l'acide urique, sont les mêmes que ceux fournis par le procédé Denigès qui dose l'ensemble des purines. Ce n'est que dans le cas d'absorption de purines médicamenteuses non transformables en acide urique par l'organisme (théobromine et caféine) que les chiffres du procédé colorimétrique sont inférieurs à ceux que donne le procédé par précipitation argentico-magnésienne.

PROCÉDÉ COLORIMÉTRIQUE DE DOSAGE DE L'ACIDE URIQUE DANS LE SANG

Ayant démontré la spécificité de la réaction phosphotungstique de Folin et Denis sur l'acide urique en l'absence de polyphénols médicamenteux le dosage de l'acide urique dans le sang devenait très facile. Il suffisait de désalbuminer ce liquide et de pratiquer ensuite la réaction phosphotungstique *directement* sur le filtrat désalbuminé après s'être assuré que le sujet n'était soumis à aucune médication polyphénolée.

Solutions et réactifs nécessaires.

1° *Solution titrée d'acide urique* à 0gr,50 par litre. Dissoudre 0gr,50 d'acide urique pur et sec dans 400 à 500 centimètres cubes d'eau chaude tenant en solution 1 gramme de phosphate monosodique et 2 grammes de phosphate disodique purs. Laisser refroidir après dissolution et parfaire le volume à un litre ; mélanger et ajouter 5 centimètres cubes de chloroforme pour empêcher le développement des bactéries. Cette solution doit être renouvelée tous les quinze jours.

2° *Solution aqueuse d'acide trichloracétique* à 20 pour 100.

3° *Réactif phosphotungstique.* Pour la préparer, porter à l'ébullition pendant deux heures dans un matras muni d'un appareil à réfrigération (entonnoir) un mélange de :

Tungstate de soude pur.	100 grammes
Acide phosphorique à 60°.	80 centimètres cubes
Eau distillée.	900 —

Laisser refroidir et compléter à un litre avec de l'eau distillée.

4° *Solution saturée de carbonate de soude.*

TECHNIQUE.

A un volume de sérum, de plasma ou de sang total, ajouter un volume d'acide trichloracétique à 20 pour 100[1]; agiter et filtrer.

Disposer deux éprouvettes graduées de 25 centimètres cubes.

Dans l'une de ces éprouvettes verser 5 centimètres cubes de filtrat trichloracétique de sang et 1 centimètre cube de réactif phosphotungstique.

Dans l'autre éprouvette verser 5 centimètres cubes d'une solution étalon d'acide urique et également 1 centimètre cube de réactif phosphotungstique.

Compléter ensuite le volume des deux éprouvettes à 25 centimètres cubes au moyen de la solution saturée de carbonate de soude. Il se produit instantanément dans chaque éprouvette une coloration bleue proportionnelle à la teneur en acide urique. On procédera immédiatement à l'évaluation colorimétrique, en raison du trouble qui peut apparaître au bout de quelques minutes dans l'éprouvette correspondant au sang[2].

L'étalon colorimétrique dont il est fait mention sera préparé en diluant plus ou moins la solution titrée d'acide urique à 0gr,50 par litre, de manière à obtenir une teinte voisine de celle de la solution de sang à doser. C'est ainsi que dans les conditions normales on

1. La désalbumination peut également être pratiquée au moyen de l'acide métaphosphorique selon la technique que j'ai indiquée avec P. Zizine.

2. Ce trouble est dû en grande partie à la présence des sels de potasse. Aussi dans la récolte du sang destiné au dosage colorimétrique de l'acide urique, éviter l'emploi de l'oxalate de potasse comme anticoagulant.

emploiera une solution d'acide urique à 0gr,025 par litre pour le sérum, à 0gr,075 pour le sang total et à 0gr,10 pour les globules. Étant donné que le sang se trouve dilué au demi après la désalbumination, ces solutions étalons correspondront respectivement à une teneur en acide urique par litre de 0gr,05 pour le sérum, de 0gr,15 pour le sang total et de 0gr,20 pour les globules.

L'examen colorimétrique étant pratiqué au colorimètre de Duboscq, le calcul se fera très simplement en considérant le fait que les titres respectifs des solutions en présence sont inversement proportionnels au rapport des hauteurs sous lesquelles elles sont vues, lorsque l'égalité des teintes est réalisée à l'appareil.

Soit h la hauteur sous laquelle est examinée la solution colorée correspondant au sang.

Soit h' la hauteur correspondant à l'étalon.

Soit c la teneur en acide urique cherchée du sang examiné,

Soit c' le chiffre d'acide urique par litre du sérum auquel correspond la teinte étalon. On aura :

$$hc = h'c',$$

d'où
$$c = c'\frac{h'}{h}.$$

Dans le cas particulier du sérum normal c' étant égal à 0gr,05, la teneur c en acide urique du litre de sérum est de :

$$0^{gr},05 \times \frac{h'}{h}.$$

Ce procédé colorimétrique de dosage de l'acide urique donne l'acide urique total sans rien présumer de son état chimique. Les taux moyens normaux d'acide urique total chez l'homme sont de 0gr,045 à 0gr,05 par litre pour le sérum, 0gr,15 pour le sang total et 0gr,20 pour les hématies.

LES VARIATIONS PATHOLOGIQUES DE L'URICÉMIE

L'hyperuricémie dans la goutte et dans la gravelle (En coll. avec A. Chauffard et P. Brodin). *Presse médicale*, 15 décembre 1920, p. 305.

Les variations sanguines de la cholestérine, de l'urée et de l'acide urique sous l'influence de la cure hydrominérale de Contrexéville (En coll. avec Bricout et Schneider). *Presse médicale*, 1er juin 1921, p. 434.

Teneur en acide urique des hématies (En coll. avec A. Chauffard et P. Brodin). *Société de Biologie*, 7 janvier 1922, p. 31.

L'hypo-uricémie (En coll. avec A. Chauffard et P. Brodin). *Société de Biologie*, 6 mai 1922, p. 918.

Normalement la teneur en acide urique du sérum déterminée par le procédé que j'ai indiqué est de 0gr,045 à 0gr,05 par litre. La teneur des globules rouges, plus élevée, est aux environs de 0gr,20 à 0gr,25. Celle du sang total intermédiaire est égale à 0gr,15 environ.

Ces chiffres subissent des variations au cours des divers états pathologiques, variations qui peuvent se traduire par une diminution du chiffre de l'acide urique sanguin (hypo-uricémie), ou au contraire une augmentation de ce même chiffre (hyperuricémie).

L'HYPO-URICÉMIE

Cet état sérique que j'ai décrit avec A, Chauffard et P. Brodin n'avait jamais à notre connaissance été signalé. Il semble relever de causes multiples parmi lesquelles figurent l'alimentation réduite, la dilution sanguine et les processus infectieux. Nous l'avons rencontré dans la grippe, l'angiocholite fébrile, le rhumatisme, la goutte aiguë, l'asystolie et l'ictère. Les chiffres observés sont parfois très bas, inférieurs à 0gr,01 d'acide urique par litre de sérum.

L'HYPERURICÉMIE

Les recherches mémorables de Garrod avaient montré la fréquence de l'hyperuricémie dans la néphrite, dans la goutte et dans la gravelle, que les travaux récents des auteurs américains et en particulier ceux de Myers, Fine et Lough sont venus confirmer. Nous avons repris cette étude avec A. Chauffard et P. Brodin.

Dans la *néphrite* l'hyperuricémie est fréquente. Elle paraît d'autant plus intense que la néphrite est plus sérieuse, et se manifeste dès le début, alors que l'azotémie est à peine marquée et que la constante d'Ambard, elle même, peut être normale. Aussi, croyons-nous avec Myers, Fine et Lough que l'hyperuricémie constitue le signe chimique le plus sensible de l'hypoperméabilité rénale.

L'hyperuricémie est pour ainsi dire constante dans la *goutte* et presque constante dans la *lithiase rénale* comme l'indiquent 20 cas de goutte et 21 cas de lithiase rénale que nous avons eu l'occasion d'observer. Nous avons montré que parallèlement avec l'augmentation de l'acide urique chez le goutteux il y avait dans la règle une augmentation de la cholestérine du sang. Hyperuricémie et hypercholestérinémie évoluent ainsi de pair dans le milieu intérieur du goutteux et cette association acide urique et cholestérine se retrouve au niveau même du tophus goutteux. M. le Pr Chauffard a attiré l'attention sur ce fait que le tophus goutteux ne devait plus être considéré comme un simple dépôt d'acide urique, mais comme un concrétion mixte d'acide urique et de cholestérine, reflet de l'état chimique du sang.

L'augmentation de l'acide urique dans les états hyperuricémiques porte non seulement sur le sérum, mais également sur les hématies. D'une manière générale les deux surcharges en acide urique sont proportionnées. C'est ainsi que dans la goutte nous avons trouvé comme taux moyen de l'acide urique dans le sérum le chiffre de 0gr,10 pour mille au lieu de 0gr,45 à 0gr,05 chiffre normal ; dans les hématies le chiffre moyen est de 0gr,36 pour mille au lieu de 0gr,20 chiffre normal. Cette imprégnation urique des hématies chez le goutteux n'est qu'un cas particulier de l'imprégnation générale plus ou moins diffuse des cellules de l'organisme qui prend des proportions considérables au niveau du tophus.

LE MÉTABOLISME NORMAL ET PATHOLOGIQUE DE L'ACIDE URIQUE

L'action d'arrêt du foie sur l'acide urique exogène (En coll. avec A. CHAUFFARD et P. BRODIN). *Comptes rendus de l'Académie des sciences*, 21 février 1921, p. 477.

La teneur en acide urique des urines dans la goutte et dans la gravelle (En coll. avec A. CHAUFFARD et P. BRODIN). *Presse médicale*, 23 février 1921, p. 153.

Le métabolisme de l'acide urique. *Biologie médicale*, janvier-février 1922, p. 30.

Diffusibilité clinique comparée de l'acide urique et de l'urée (En coll. avec A. CHAUFFARD et P. BRODIN). *Société de Biologie*, 18 février 1922, p. 355.

Le métabolisme normal et pathologique de l'acide urique. *Archivos de medicina, cirurgia, y especialidades*, avril 1922, n° 3, p. 97.

Diffusibilité dialytique comparée de l'urée, du chlorure de sodium, de l'acide urique et du glucose (En coll. avec A. CHAUFFARD et P. BRODIN). *Annales de médecine*, octobre 1922, n° 4, p. 257.

On sait que l'acide urique de l'organisme tire son origine des nucléoprotéides. Ceux-ci sous l'influence de ferments particuliers : les *nucléases*, sont dédoublés en leurs éléments. Il se sépare d'abord de l'*acide nucléique*, qui lui-même se scinde en *nucléotides* et *nucléosides* avec finalement mise en liberté de *bases puriques*. Celles ci sont alors reprises par les processus d'oxydation et transformées en *acide urique*.

L'acide urique ainsi formé a une destinée multiple : une partie est détruite par le foie (fonction uricolytique du foie), une autre partie s'élimine par les urines, tandis qu'une portion plus ou moins importante selon l'état de santé ou de maladie est retenue dans l'organisme.

DESTRUCTION DE L'ACIDE URIQUE PAR LE FOIE

Une certaine partie de l'acide urique produit par l'organisme est normalement détruite par le foie. Avec A. Chauffard et P. Brodin, nous avons pu mettre directement en évidence la fonction uricolytique du foie par l'étude comparée de la teneur en acide urique du sang de la veine porte et du sang des veines sus-hépatiques ; le sang des veines sus-hépatiques et des veines périphériques est dans la règle moins riche en acide urique que le sang de la veine porte. Cette action d'arrêt du foie est surtout marquée pour l'acide urique exogène, tandis qu'elle touche peu l'acide urique endogène. C'est ainsi, comme le montre le tableau suivant que chez les animaux examinés après une période de jeûne ou au cours d'un régime sans purines, nous n'avons pu constater aucune différence appréciable entre les teneurs en acide urique du sang afférent et du sang efférent au foie.

Action d'arrêt du foie sur l'acide urique exogène.

NUMÉROS DES CHIENS	RÉGIME	SANG		COEFFICIENT D'ARRÊT DANS LE FOIE (pour 100)
		PORTE	SUS-HÉPATIQUE	
		cm³	cm³	
1	jeûne	0,0087	0,0087	0
2	»	0,011	0,011	0
3	»	0,015	0,015	0
4	lait	0,006	0,006	0
5	varié	0,007	0,009	0
6	cervelle	0,010	0,088	12
7	ris de veau	0,0118	0,009	23
8	varié	0,034	0,025	27
9	ris de veau	0,031	0,022	30
10	varié	0,018	0,011	39
11	varié	0,015	0,010	34
12	foie et rate	0,014	0,007	47
13	foie et rate	0,013	0,006	53

Ces recherches nous permettent de comprendre les rapports du foie et de l'acide urique sous une forme très différente de celle qui est admise par la majorité des cliniciens anglais depuis les travaux clas-

siques de Garrod sur la goutte et de Murchison sur les troubles fonctionnels du foie.

Le foie d'après eux deviendrait formateur d'acide urique quand, par le fait de la maladie, sa fonction uréopoiétique devient insuffisante ; cette théorie n'est basée que sur des considérations d'ordre clinique et dépourvue de toute base expérimentale.

Nous comprendrions beaucoup mieux qu'à l'état pathologique, et notamment chez les hyperuricémiques par goutte ou par gravelle, la fonction d'arrêt du foie pût devenir insuffisante, incapable d'arrêter les apports alimentaires d'acide urique, et nous trouverions là l'explication physiologique de l'importance capitale des régimes chez les malades de ce genre. Ainsi se comprendraient aussi les affinités que la clinique a depuis longtemps révélées entre les troubles de la nutrition générale, du métabolisme azoté et hydrocarboné, et les troubles fonctionnels ou les lésions de la glande hépatique.

ÉLIMINATION DE L'ACIDE URIQUE PAR L'URINE

L'élimination de l'acide urique de l'organisme se fait presque exclusivement par l'urine.

On admet généralement que l'acide urique est dissous dans l'urine à la faveur des phosphates et des alcalins. La solution d'acide urique que représente l'urine ne saurait être assimilée à une simple dissolution dans les alcalis ou les phosphates alcalins. En effet, si l'acide urique est soluble dans les alcalins et les phosphates alcalins, il se précipite dès que l'on acidifie la liqueur et que l'on déplace l'acide urique de sa combinaison saline. Avec le phosphate disodique, la précipitation commence à se produire dès que l'on approche du terme d'acidification, correspondant à la transformation de tout le phosphate disodique en phosphate acide.

Or, dans l'urine normale les phosphates sont entièrement à l'état de phosphates acides. Il existe même outre l'acidité due aux phosphates une acidité organique qui n'est pas négligeable et cependant l'acide urique est maintenu dissous. Bien plus, on peut ajouter à une urine normale quelques centimètres cubes d'acide acétique par litre sans provoquer la cristallisation de l'acide urique. Même l'addition d'acides

minéraux en grande quantité selon le procédé de Heintz laisse encore en solution une quantité plus ou moins importante d'acide urique, en dehors de celle prévue par le facteur de solubilité. C'est que dans la dissolution de l'acide urique dans l'urine interviennent d'autres éléments que les phosphates et les bases.

Dans la pratique du dosage de l'acide urique par le procédé de Heintz, on s'est aperçu depuis longtemps, que la précipitation de l'acide urique par les acides était très incomplète en milieu albumineux. L'addition de dextrine, de gomme arabique, d'amidon, de peptone à une solution d'urate de soude empêche également dans une certaine mesure la précipitation de l'acide urique par les acides. Ces faits nous autorisent à penser que dans l'urine, milieu nettement acide, l'acide urique est maintenu en solution grâce à la présence de certaines matières organiques. Parmi celles-ci, Klemperer attribue une importance primordiale *à l'urochrome,* pigment normal de l'urine, qu'il considère comme le solvant naturel de l'acide urique.

On comprend ainsi que lorsque pour une raison ou pour une autre, les substances organiques qui assurent la dissolution de l'acide urique viennent à manquer dans l'urine, celle-ci abandonne une partie de son acide urique sous forme précipitée. Peut-être faut-il rechercher dans cette cause la raison des précipitations de l'acide urique urinaire au cours de certaines maladies, comme au cours des cures de lavage, précipitations que ne peuvent expliquer ni l'acidité urinaire, ni le taux de l'élimination urique, d'ailleurs la plupart du temps normaux.

Dans la goutte et dans la gravelle le taux quotidien de l'acide urique urinaire est dans la règle normal, contrastant avec le chiffre élevé de l'acide urique du sang. Sur 36 cas de goutte ou de gravelle que j'ai eu l'occasion d'examiner, 23 fois la teneur en acide urique des urines ne dépassait pas 60 à 70 centigrammes par vingt-quatre heures, chiffre normal; 13 fois elle était comprise entre 70 et 1 gramme et 3 fois entre 1 gramme et 1gr,50.

Cette règle reste vraie, même dans les cas où il existe un abondant dépôt d'acide urique cristallisé ou d'urates. Malgré leur aspect trompeur, ces urines ne renferment généralement qu'une proportion faible d'acide urique et la cause de la précipitation doit être recherchée non dans une concentration de l'acide urique urinaire, mais dans les modification des conditions de solubilité de cet élément.

RÉTENTION DE L'ACIDE URIQUE DANS L'ORGANISME

L'insuffisance rénale est incapable à elle seule d'expliquer la rétention de l'acide urique dans l'organisme des goutteux et des graveleux. Certes le rein est très fréquemment touché chez ces malades et les recherches poursuivies avec A. Chauffard et P. Brodin nous ont montré que l'hypéruricémie s'accompagne fréquemment chez eux d'une élévation de la constante d'Ambard avec parfois une augmentation de l'urée sanguine.

Nous ne croyons pas cependant que cette lésion rénale soit la cause primordiale de la rétention d'acide urique chez les goutteux et chez les graveleux et cela pour plusieurs raisons : tout d'abord, si l'élévation du coefficient d'Ambard est fréquente, elle n'est pas constante, et il est en effet nombre de cas où l'hypéruricémie existe alors que la perméabilité rénale est parfaitement normale. Mais même lorsque la lésion rénale existe, révélée par la constante d'Ambard, on note une grande disproportion entre cette lésion souvent à peine marquée et l'hypéruricémie presque toujours considérable. Or pareille disproportion ne s'observe pas dans les néphrites pures où on constate au contraire un certain parallélisme entre le degré de l'imperméabilité rénale et le taux de l'uricémie.

La rétention de l'acide urique dans l'organisme des goutteux et des graveleux ne peut s'expliquer non plus par une diffusibilité restreinte de l'urate de soude. Nos recherches avec A. Chauffard et P. Brodin montrent en effet que si l'urate de soude est moins diffusible que l'urée et le chlorure de sodium, il l'est cependant plus que le glucose. Nous avons trouvé comme coefficient de dialyse à travers le parchemin 93 pour l'urée, 92 pour le chlorure de sodium, 74 pour l'urate de soude et 59 pour le glucose. Si on envisage les membranes pleurale et péritonéale la diffusibilité de l'urate de soude apparaît encore plus grande ; nous avons montré que la teneur en acide urique des liquides pleuraux et ascitiques est, chez un individu donné, toujours égale à celle du sérum.

Le fait d'une rétention d'acide urique chez les goutteux, alors que la perméabilité rénale peut être parfaitement normale, laisse alors

supposer l'existence dans le sang de ces malades de formes particulières de composés uriques, différentes de l'urate de soude et beaucoup moins diffusibles que celui-ci. C'est la conclusion à laquelle nous sommes arrivés avec A. Chauffard et P. Brodin.

Peut-être ces « acides uriques composés » proviennent-ils d'un clivage imparfait des acides nucléiques générateurs de l'acide urique, avec oxydation des purines à l'intérieur même de la molécule non dédoublée des nucléotines et des nucléosides. La goutte deviendrait ainsi une maladie par insuffisance des ferments nucléolytiques ou nucléases. C'est en tout cas à l'heure actuelle la théorie qui rend le mieux compte des faits et qui cadre le mieux avec la conception clinique de la goutte, maladie de la nutrition.

III

GLUCOSE

LE DOSAGE DU GLUCOSE DANS LE SANG

Le taux du glucose dans le sang total chez les individus normaux (En coll. avec P. Brodin et Rouzaud). *Société de Biologie*, 8 mai 1914, p. 708.

Étude de la désalbumination par l'acide métaphosphorique. Application à l'analyse chimique du sang, des liquides pathologiques et du liquide céphalo-rachidien (En coll. avec P. Zizine). *Bull. de la Soc. de Chimie Biologique*, juillet-août 1922, t. IV, p. 388.

Au moment où nous avons entrepris nos premières recherches sur le glucose, l'accord était loin d'être fait sur la teneur normale en sucre du sang. Pour Franck et ses élèves, le taux moyen dans le sang total oscillait entre $0^{gr},70$ et $0^{gr},96$ pour 1 000 ; pour Schumm et Hegler les variations étaient encore plus étendues allant de $0^{gr},30$ à $1^{gr},30$ pour 1000. Schirokauer évaluait la glycémie normale à $1^{gr},10$ pour 1 000 dans le plasma; Baudoin adoptait le chiffre de $1^{gr},25$ à $1^{gr},50$ comme taux moyen normal du glucose dans le sang total.

Nous avons repris ces recherches en utilisant la défécation par le nitrate mercurique suivie du dosage par la méthode de Bertrand, procédé déjà employé par H. Bierry et P. Portier et par Baudoin. La technique à laquelle nous nous sommes arrêtés ne diffère que par quelques points de détail des procédés précédents : centrifugation de l'oxydule de cuivre, emploi de solutions de Bertrand doublement concentrées de manière à pouvoir opérer sur 40 centimètres cubes de sang et à pouvoir ainsi utiliser les tables de cet auteur. La voici dans ses grandes lignes :

Le sang prélevé par ponction veineuse est reçu en agitant sur du fluorure de sodium. Dans un verre à pied on place 20 centimètres cubes de sang ou de sérum fluorés, 20 centimètres cubes d'eau et goutte à goutte en agitant constamment 15 centimètres cubes de réactif de Patein. On neutralise ensuite le mélange au moyen de lessive de soude diluée. Dans le cas où on aurait dépassé la neutralisation, on ramènerait à une légère acidité à l'aide de l'acide acétique dilué. Le mélange est alors complété à 80 centimètres cubes avec de l'eau distillée, filtré à la trompe et débarrassé de l'excès de mercure au moyen de la poudre de zinc.

A 40 centimètres cubes de filtrat (correspondant à 10 centimètres cubes de sang), ajouter 10 centimètres cubes de solution A de Bertrand doublée et 10 centimètres cubes de solution B de Bertrand également doublement concentrée. Porter le mélange à l'ébullition pendant trois minutes et centrifuger. L'oxydule de cuivre collé au fond du tube à centrifuger est facilement séparé de la liqueur surnageante par simple décantation. On le dissout immédiatement dans la liqueur ferrométrique en lui évitant tout contact direct avec l'air et on termine le dosage par un titrage au permanganate de potasse exactement selon la méthode de Bertrand, en se servant des tables de cet auteur.

Au moyen de cette méthode nous avons examiné le sang d'individus pouvant être considérés comme normaux et prélevés dans les corps de troupes. Les prises de sang ont été effectuées dans les conditions normales d'alimentation à des heures variables de la journée, mais toujours au moins quatre heures après les repas. Nos dosages nous ont montré que les oscillations normales de la glycémie étaient très restreintes et variaient entre 0^{gr},88 et 1^{gr},05 par litre de sang total. Nous avons pu fixer à 1 gramme le chiffre moyen normal de la glycémie chez l'homme, chiffre qui a été retrouvé depuis par tous les auteurs qui se sont occupés de la question.

*
* *

En collaboration avec P. Zizine j'ai indiqué un *procédé colorimétrique de dosage du sucre dans le sang*, applicable à de petites quantités de sang. Ce procédé est une nouvelle application du procédé de désalbumination par l'acide métaphosphorique déjà utilisé par nous pour le dosage de l'urée, de l'acide urique et de l'azote non protéique

le glucose est dosé colorimétriquement selon la méthode phosphotungstomolybdique de Folin et Wu. Voici dans ses grandes lignes la technique pour le dosage dans le sang et le liquide céphalo-rachidien.

SOLUTIONS ET RÉACTIFS NÉCESSAIRES

1° *Solutions étalons de glucose :*

a) Solution mère à 10 grammes pour 1 000 centimètres cubes.

b) Solution étalon à 0gr,10 pour 1 000 centimètres cubes.

c) Solution étalon à 0gr,15 pour 1 000 centimètres cubes.

d) Solution étalon à 0gr,20 pour 1 000 centimètres cubes.

La solution mère *a* est additionnée de quelques gouttes de xylol aussitôt sa préparation. Elle doit être renouvelée tous les mois.

Les solutions *b*, *c* et *d* en raison de leur grande dilution sont très altérables. Elles seront préparées au moment du besoin en plaçant respectivement dans trois vases jaugés de 100 centimètres cubes, 1 centimètre cube, 1cc,5 et 2 centimètres cubes de solution mère *a* et complétant à 100 centimètres cubes avec de l'eau distillée.

2° *Liqueur cupro-alcaline.*

Carbonate de soude cristallisé.		40 gr.
Acide tartrique.		7 gr. 50
Sulfate de cuivre cristallisé.		4 gr. 50
Eau distillée.	*q. s. p.*	1 000 cm³.

Faire dissoudre successivement dans 400 centimètres cubes d'eau distillée le carbonate de soude puis l'acide tartrique. Ajouter ensuite le sulfate de cuivre dissous dans 50 centimètres cubes d'eau distillée. Compléter le volume à 1 000 centimètres cubes avec de l'eau distillée. Décanter le liquide clair au bout de quelques jours.

3° *Solution phosphotungstomolybdique :*

Acide molybdique.		35 gr.
Tungstate de soude.		5 gr.
Soude en plaques.		20 gr.
Acide phosphorique à 85 pour 100.		125 cm³.
Eau distillée.	*q. s. p.*	1 000 cm³.

Placer dans un matras de 1 000 centimètres cubes l'acide molybdique,

le tungstate de soude, la soude en plaques et 400 centimètres cubes environ d'eau distillée. Faire bouillir 20 à 40 minutes jusqu'à départ complet de l'ammoniaque que renferme toujours l'acide molybdique. Laisser refroidir et ajouter l'acide phosphorique étendu du reste de l'eau distillée.

On vérifiera que 2 centimètres cubes de ce réactif ajoutés à 2 centimètres cubes de liqueur cupro-alcaline donnent un mélange incolore.

TECHNIQUE

Dosage du glucose dans le sang. — Le sang est recueilli par ponction veineuse au pli du coude au moyen d'une seringue contenant une petite quantité de fluorure de sodium en poudre (environ 0gr,02 de fluorure de sodium pour une seringue de 2 centimètres cubes). On agite et on centrifuge immédiatement.

Le plasma fluoré est récolté et traité immédiatement de la manière suivante :

Eau distillée.	4 cm³, 3
Plasma.	0 cm³, 5
Solution de métaphosphate de soude à 20 pour 100.	0 cm³, 1
Solution binormale d'acide chlorydrique. . . .	0 cm³, 1

Mélanger d'abord le plasma, l'eau et la solution de métaphosphate de soude. Ajouter ensuite l'acide chlorhydrique ; agiter et filtrer. On obtient ainsi un filtrat qui représente *le dixième* de son volume de plasma.

Dans un petit tube à essai de 10 à 15 centimètres cubes, placer :

Filtrat précédent.	2 cm³
Liqueur cupro-alcaline.	2 cm³

D'autre part, dans trois autres tubes à essai *de mêmes dimensions*, marqués E_1, E_2 et E_3, on place respectivement 2 centimètres cubes de chacune des trois solutions étalons de glucose à 0gr,10, 0gr,15 et 0gr,20 pour 1 000 et 2 centimètres cubes de liqueur cupro-alcaline.

Les tubes sont disposés dans un petit panier métallique et plongés dans un bain-marie bouillant pendant 6 à minutes. On retire ensuite

le panier du bain-marie et on le place dans un cristallisoir rempli d'eau froide. Après refroidissement, on met dans chacun des tubes 2 centimètres cubes de solution phosphotungstomolybdique qui dissout le précipité d'oxydule de cuivre formé et donne une solution bleue d'oxyde de molybdène plus ou moins intense selon la teneur en glucose des solutions mises en œuvre. On abandonne au repos deux minutes et on dilue à 50 centimètres cubes avec de l'eau distillée.

On compare ensuite au colorimètre de Duboscq sous une épaisseur de 40 millimètres, l'intensité de la coloration bleue fournie par le plasma avec celle des trois solutions étalons qui s'en rapproche le plus et on détermine par le calcul la teneur en sucre du plasma en considérant que l'égalité de teinte correspond à 1 gramme de glucose par litre pour l'étalon E_1, à 1gr,50 pour l'étalon E_2, à 2 grammes pour l'étalon E_3.

Lorsque l'on obtient pour le plasma une coloration beaucoup plus faible que celle de l'étalon E_1, on recommence l'opération en prenant 1 centimètre cube de plasma au lieu de 0cc,5 que l'on traite comme précédemment par l'eau distillée (3cc,6), la solution d'acide métaphosphorique à 20 pour 100 (0cc,2) et la solution binormale d'acide chlorhydrique (0cc,2) de manière à obtenir un filtrat au cinquième. On tiendra compte de cette dilution *au cinquième* dans les calculs.

Au contraire, lorsque l'on trouve pour le plasma une intensité de coloration beaucoup plus forte que l'étalon E_3, on recommence l'opération en diluant le plasma ou le filtrat de façon à obtenir une teinte comprise entre celles des étalons colorimétriques et on tient compte de cette dilution dans les calculs.

Dosage du glucose dans le liquide céphalorachidien. — Pour le liquide céphalorachidien qui, normalement, est peu riche en sucre, on opérera comme pour les plasmas peu riches en sucre, en constituant un filtrat *au cinquième*. Mélanger dans l'ordre :

Liquide céphalorachidien.	2 cm³
Solution de métaphosphate à 20 pour 100. . . .	0 cm³, 1
— binormale d'acide chlorhydrique. . . .	0 cm³, 1
Eau distillée..	2 cm³, 8

Mélanger d'abord le liquide céphalorachidien et la solution de

métaphosphate de soude ; ajouter ensuite l'acide chlorhydrique et agiter ; ajouter *en dernier lieu* l'eau distillée, agiter et filtrer.

Dans le cas où la coloration obtenue serait beaucoup plus intense que l'étalon E_3, on recommencera l'opération en diluant plus fortement le filtrat précédent, de manière à obtenir une teinte voisine des étalons colorimétriques et on tiendra compte de cette dilution dans les calculs.

Ce procédé donne à 3 pour 100 près les mêmes chiffres que le procédé Bertrand modifié décrit ci-dessus.

VARIATIONS PATHOLOGIQUES DE LA GLYCÉMIE

Élévation du taux du glucose dans le sang total au cours des infections (En coll. avec P. Brodin et Rouzaud). *Société de Biologie*, 13 juin 1914, p. 91.

Élévation du glucose dans le sang total au cours des néphrites aiguës et chroniques (En coll. avec P. Brodin et Rouzaud). *Société de Biologie*, 24 janvier 1920, p. 53.

LA GLYCÉMIE DANS L'INFECTION

On sait depuis longtemps que la glycémie subit de grandes variations dans l'infection. Reprenant cette étude avec P. Brodin et Rouzaud, nous avons confirmé la constance de l'hyperglycémie au cours des infections et cherché à préciser l'évolution de cette hyperglycémie et ses causes. Nos recherches nous ont permis de formuler les conclusions suivantes :

1° *Le taux de l'hyperglycémie dans l'infection est d'autant plus élevé que l'infection est plus grave.*

2° *Cette hyperglycémie est très passagère et cesse brusquement au moment même de la défervescence.*

Pour expliquer l'hyperglycémie infectieuse, trois hypothèses ont été émises. On l'a attribué successivement à l'hyperthermie, à la dyspnée, à l'intoxication de l'organisme.

L'*hyperthermie* ne nous semble jouer aucun rôle, nous n'avons constaté aucune relation entre l'intensité de la fièvre et le taux de la glycémie et dans deux cas de tuberculose pulmonaire aiguë avec température entre 39 et 40 nous avons trouvé une glycémie de 0,92 et de 1gr,05 c'est-à-dire des chiffres normaux.

La *dyspnée* n'a qu'un rôle accessoire, plusieurs de nos malades n'avaient que peu ou pas de dyspnée. Par contre, deux d'entre eux

présentaient une gêne respiratoire très marquée avec cyanose et cependant leur glycémie n'était pas très élevée (1gr,37).

Le facteur qui nous semble jouer le rôle le plus important est l'*intoxication* de l'organisme sans qu'il nous soit encore possible de déterminer par quel mécanisme agit cette intoxication.

Cette dernière hypothèse explique la disparition brusque de l'hyperglycémie au moment de la défervescence, et de la crise urinaire et sa persistance lorsque, comme dans un de nos cas, une néphrite surajoutée vient retarder cette crise urinaire.

LA GLYCÉMIE DANS LE MAL DE BRIGHT

L'hyperglycémie est la règle tant dans les néphrites aiguës que dans les néphrites chroniques. Telle est la conclusion à laquelle nous ont conduit les recherches que j'ai poursuivies à ce sujet avec P. Brodin et Rouzaud.

Cette hyperglycémie est due en partie à l'imperméabilité rénale et à la rétention qui en résulte. Si en effet on étudie parallèlement glycémie et glycosurie, on constate que dans les néphrites le seuil d'élimination du glucose s'élève. Mais il ne semble pas qu'il s'agisse simplement de rétention et, comme dans les maladies infectieuses, la cause la plus importante de cette hyperglycémie doit être un trouble profond dans les échanges sans qu'il soit encore possible de préciser le mécanisme de ce trouble.

LA DIARRHÉE DES DIABÉTIQUES

La diarrhée des glycosuriques. Élimination du sucre par les matières fécales (En coll. avec L. Renon et Charles Richet fils). *XIIe Congrès français de médecine*, Lyon, octobre 1911.

Fonction éliminatrice de l'intestin. Élimination du glucose, de l'urée et du chlorure de sodium par la muqueuse gastro-intestinale (En coll. avec Charles Richet fils). *Société de Biologie*, 23 janvier 1912, p. 143.

En collaboration avec L. Renon et Charles Richet fils nous avons étudié l'élimination du sucre par l'intestin chez les diabétiques. Tandis que chez le diabétique ne présentant pas de diarrhée la teneur en sucre des matières fécales est pratiquement nulle, elle peut être très élevée chez le diabétique diarrhéique. La diarrhée des diabétiques est ainsi une diarrhée d'élimination et constitue un processus de défense de l'organisme de tous points comparable à l'augmentation du chlorure de sodium et de l'urée dans le tube digestif au cours de certains épisodes du mal de Bright. Dans tous ces cas, l'intestin tente de suppléer à la fonction rénale déficiente ou débordée et joue un véritable rôle vicariant dans l'élimination du glucose, de l'urée et du chlorure de sodium.

Pour mieux mettre ce fait en évidence nous nous sommes adressés à l'expérimentation. Injectant avec Charles Richet fils des doses massives de glucose, d'urée et de chlorure de sodium dans les veines du chien, nous avons examiné comparativement l'élimination urinaire et l'élimination fécale de ces corps.

Nous avons observé que l'injection intra-veineuse de 20 grammes de glucose par kilogramme d'animal détermine toujours de la diarrhée et que cette diarrhée contient une quantité abondante de sucre. Le rapport entre le sucre éliminé par les matières fécales et le sucre éliminé par l'urine dans ces conditions est d'environ 1 à 3.

Élimination de glucose.

POIDS DE L'ANIMAL	QUANTITÉ DE GLUCOSE injecté	TITRE de la SOLUTION de glucose	CONTENU INTESTINAL			URINES	
			CONSISTANCE	POIDS	GLUCOSE contenu	POIDS	GLUCOSE contenu.
Kg		Pour 100.		Grammes	Grammes	Grammes	Grammes
6	162	25	liquide	40	1,05	300	14
7,600	112	25	liquide	115	3,50	550	11
8	160	25	liquide	220	10,20	320	14,60

Pour l'urée nous avons observé le rapport de 1 à 3 semblable à celui du glucose. Ici encore l'élimination intestinale s'accompagne d'une diarrhée abondante. Nous avons constaté en outre presque toujours des lésions intestinales : œdème, ecchymoses.

Élimination de l'urée.

POIDS de L'ANIMAL	QUANTITÉ D'URÉE injectée	TITRE de la SOLUTION d'urée	CONTENU GASTRIQUE		CONTENU INTESTINAL		URINES	
			Poids	Urée contenue	Poids	Urée contenue.	Poids.	Urée contenue
Kg	Grammes	Pour 100.	Grammes	Grammes	Grammes	Grammes	Grammes	Grammes
5,8	74	5	110	1,48	100	1,80	230	5,10
6,8	170	10	240	5,23	50	1,38	530	15,23
6,3	160	10	70	0,42	65	1,32	650	18,20

En ce qui concerne le chlorure de sodium, l'injection intraveineuse de quantités abondantes de ce sel est également suivie d'une élimination par l'intestin. Le rapport de l'élimination fécale à l'élimination urinaire est ici de 1 à 4.

Élimination du chlorure de sodium.

POIDS de L'ANIMAL	QUANTITÉ de NaCl INJECTÉ	TITRE de la SOLUTION de NaCl	CONTENU GASTRIQUE		CONTENU INTESTINAL		URINES	
			Poids.	NaCl contenu.	Poids	NaCl contenu.	Poids	NaCl contenu.
Kg.	Grammes	Pour 100.	Grammes	Grammes	Grammes	Grammes	Grammes	Grammes
10	62	5	90	1,10	80	0,69	1 000	14,70
7,6	38	5	70	0,73	150	1,92	550	6,95
8	28	5	(*)		130	1,24	320	3,55

(*) Les matières gastriques ont été mélangées par mégarde aux matières intestinales.

Au cours de ces expériences nous avons pu noter également que la teneur du liquide diarrhéique en glucose, urée ou chlorure de sodium est identique à celle de l'urine émise au même moment. La comparaison entre les deux éliminations rénale et intestinale permet donc de dire que si la seconde est moins considérable que la première, néanmoins la concentration du liquide intestinal est très sensiblement la même que la concentration du liquide urinaire ; la différence porte donc sur la *quantité* et non sur la *qualité* du travail effectué. Ainsi la cellule intestinale est capable, dans certains cas, de jouer un rôle comparable à celui de la cellule rénale, puisque les liquides excrétés, urines et fèces, ont une concentration identique.

IV

AZOTE NON PROTÉÏQUE

SÉPARATION DE L'AZOTE NON PROTÉÏQUE DES MILIEUX ALBUMINEUX

Les substances azotées non protéïques du sang en pathologie. *Plus ultra*, Madrid, décembre 1919.

L'azote non protéïque du sang. *Biologie médicale*, 1921, n° 10.

Étude de la désalbumination par l'acide métaphosphorique. Application à l'analyse chimique du sang, des liquides pathologiques et du liquide céphalo-rachidien (En coll. avec P. ZIZINE). *Bull. de la Soc. de Chimie Biologique*, juillet-août 1922, t. IV, p. 388.

La désalbumination par l'acide métaphosphorique et son intérêt en clinique (En coll. avec P. ZIZINE). *La Médecine*, septembre 1922.

L'azote non protéïque s'obtient en traitant les milieux albumineux par un désalbuminant approprié et en dosant l'azote contenu dans une partie aliquote du filtrat désalbuminé. J'ai montré avec P. Zizine que la nature du désalbuminant et la façon dont il était employé étaient susceptibles de faire varier dans de larges mesures la composition et le taux de l'azote non protéïqne ainsi déterminé. Nous avons ainsi distingué des variations *quantitatives* et des variations *quatitatives* de l'azote non protéïque occasionnées par des modalités différentes dans la désalbumination.

VARIATIONS QUANTITATIVES DE L'AZOTE NON PROTÉÏQUE SOUS L'INFLUENCE DES DÉSALBUMINANTS

Nos recherches ont porté sur les deux désalbuminants acides classiquement employés : l'acide trichloracétique et l'acide métaphosphorique dont nous nous sommes efforcés de préciser l'action sur le taux de l'azote non protéïque du sérum sanguin. Nous avons pu ainsi dégager les deux lois suivantes :

1re Loi. — Influence de l'acidité du milieu. — *Pour un désalbuminant acide donné la quantité d'azote non protéïque qui passe dans le filtrat varie en raison inverse de l'acidité du milieu.*

Soit la désalbumination classique du sérum par l'acide trichloracétique à 20 pour 100 selon le procédé de Moog : à un volume de sérum, on ajoute un volume d'acide trichloracétique à 20 pour 100, on agite et on filtre. On obtient ainsi un filtrat qui correspond à la moitié de son volume de sérum.

Dans ce procédé, on peut faire varier le titre de la solution trichloracétique fixée à 20 pour 100 par Moog. Ce titre peut être considérablement réduit, ou au contraire considérablement augmenté tout en continuant à obtenir un filtrat *complètement* désalbuminé. La limite inférieure ou *acidité minima* jusqu'à laquelle peut être réduit dans ces conditions le titre de la solution trichloracétique est d'environ 6 pour 100; la limite supérieure ou *acidité maxima* jusqu'à laquelle il peut être porté est d'environ 80 pour 100. Au-dessus de cette limite des albumines commencent à apparaître dans le filtrat, solubilisées par la liqueur trichloracétique forte.

Si dans la technique de désalbumination du sérum de Moog, on remplace la solution d'acide trichloracétique à 20 pour 100 par des solutions d'acide trichloracétique progressivement *croissantes*, en partant de la solution à 6 pour 100, on obtient une courbe *décroissante* dans le taux de l'azote non protéïque dont le tableau suivant est un exemple. Remarquons toutefois que le taux se relève légèrement à partir de la solution à 30 pour 100. C'est qu'à partir de cette concentration commence à se manifester l'action protéolytique de l'acide trichloracétique et à l'azote non protéïque viennent s'ajouter des produits de dédoublement des albuminoïdes.

Variation de la teneur en azote non protéique des filtrates trichloracétiques en fonction de l'acidité du milieu.

TITRE DE LA SOLUTION D'ACIDE TRICHLORACÉTIQUE	CHIFFRE D'AZOTE NON PROTÉIQUE DU SÉRUM
Pour 100.	Grammes par litre.
6	0,38
8	0,35
10	0,30
20	0,27
30	0,255
40	0,28
50	0,285
60	0,30
80	0,32

Dans le cas de l'acide métaphosphorique les limites entre lesquelles on peut faire varier l'acidité pour obtenir la désalbumination totale du sérum sont beaucoup plus restreintes qu'avec l'acide trichloracétique. Soit par exemple le procédé de désalbumination au demi que j'ai indiqué avec P. Zizine et qui consiste à prendre :

Sérum.	10 cm³
Eau distillée.	6 cm³
Solution de métaphosphate de soude à 20 pour 100..	2 cm³
Solution binormale d'acide chlorhydrique.. . . .	2 cm³

Mélanger d'abord le sérum, l'eau distillée et la solution de métaphosphate de soude, ajouter ensuite l'acide chlorhydrique ; agiter et filtrer.

La quantité d'acide chlorhydrique et partant la quantité d'acide métaphosphorique mise en liberté peut être réduite ou augmentée tout en continuant à obtenir un filtrat complètement désalbuminé. Nous avons pu réduire ainsi jusqu'à 0cm³,5 la quantité d'acide chlorhydrique binormal (*acidité minima*) ou l'augmenter jusqu'à 4 centimètres cubes (*acidité maxima*) ; la proportion d'eau distillée ajoutée étant calculée chaque fois de manière à obtenir toujours le même volume final. Les différences entre l'acidité maxima et l'acidité minima au point de vue du taux de l'azote non protéique existent ici comme dans le cas de l'acide trichloracétique, mais elles sont bien moins accusées, étant donné les limites restreintes entre lesquelles on peut faire varier les acidités.

Variations de la teneur en azote non protéique des filtrats métaphosphoriques en fonction de l'acidité du milieu.

Les chiffres sont exprimés en grammes et rapportés au litre de sérum.

	ACIDITÉ MINIMA	ACIDITÉ MOYENNE	ACIDITÉ MAXIMA
Ictère par rétention	0,52	0,52	0,50
Méningite	0,40	0,385	0,385
Hypertension	0,71	0,71	0,71
Néphrite aiguë	1,02	1,02	1,02
Cardio-rénal	0,61	0,60	0,60

2e LOI. — INFLUENCE DE LA DILUTION DU MILIEU. — *Pour un désalbuminant acide donné la quantité d'azote non protéique qui passe dans le filtrat varie en raison inverse de la dilution du milieu.*

Si, avant d'ajouter les réactifs désalbuminants, on dilue le sérum dans une quantité plus ou moins importante d'eau, on voit les proportions d'azote non protéique du filtrat diminuer au fur et à mesure qu'augmente la dilution. Ce fait est illustré par le tableau suivant où sont consignés les dosages d'azote non protéique pratiqués sur divers sérums après désalbumination métaphosphorique *au demi* par le procédé précédemment indiqué et après désalbumination métaphosphorique *au dixième* par le procédé suivant :

Sérum	1 cm³
Eau distillée	8 cm³,6
Solution de métaphosphate de soude à 20 pour 100	0 cm³,2
Solution binormale d'acide chlorhydrique	0 cm³,2

Variations de la teneur en azote non protéique des filtrats métaphosphoriques en fonction de la dilution du milieu.

Les chiffres sont exprimés en grammes et rapportés au litre de sérum.

	FILTRAT MÉTAPHOSPHORIQUE au demi	FILTRAT MÉTAPHOSPHORIQUE au dixième
Fistule vésico-vaginale	0,50	0,24
Emphysème	0,32	0,26
Pneumonie	0,38	0,24
Tabes	0,37	0,29
Paralysie	0,48	0,28
Cardio-rénal	0,75	0,41
Hypertension	1,11	0,43

VARIATIONS QUALITATIVES DE L'AZOTE NON PROTÉIQUE SOUS L'INFLUENCE DES DÉSALBUMINANTS

Les expériences précédentes ont montré que les quantités d'azote non protéique qui passent dans les filtrats de désalbumination acide croissent à mesure que l'on réduit l'acidité du milieu et que l'on opère en milieu albumineux plus concentré. Au point de vue qualitatif ce surplus d'azote non protéique marque l'apparition dans le filtrat de substances azotées nouvelles qui donnent la réaction du biuret.

Contrairement à ce qui a été avancé ces substances biurétiques ne proviennent pas d'une hydrolyse des albuminoïdes par les désalbuminants acides, car à l'inverse de ce qui devrait se passer s'il s'agissait d'une hydrolyse, elles apparaissent dans le filtrat, alors que l'on *réduit* l'acidité due au désalbuminant.

J'ai montré avec P. Zizine que ces substances biurétiques préexistent bien dans le sérum sanguin où en raison de leur poids moléculaire relativement élevé, elles sont accolées aux albumines sous forme de combinaisons complexes. Si l'acide trichloracétique à 20 pour 100 selon le procédé de Moog ne les entraîne pas dans le filtrat, c'est qu'il est incapable de les dissocier. Au contraire une acidité de désalbumination plus faible les dissocie d'autant plus facilement qu'on se rapproche davantage de l'*acidité minima*. C'est pour cette raison qu'elles figurent en abondance dans les filtrats de désalbumination au demi obtenus avec l'acide trichloracétique à 6 pour 100 ou avec l'acide métaphosphorique selon le procédé que j'ai indiqué avec P. Zizine.

On a discuté sur la nature de ces substances. Certains auteurs pensaient qu'il s'agissait de peptones. Il n'en est rien, car si la réaction du biuret est positive, la réaction de Tanret comme nous l'avons montré est négative, indiquant ainsi l'absence de peptones. Il s'agit donc de corps plus dégradés que les peptones quoique plus compliqués que les acides aminés, c'est-à-dire de *polypeptides*.

Ainsi la désalbumination au demi par l'acide trichloracétique à 6 pour 100 comme par l'acide métaphosphorique apporte dans le dosage de l'azote non protéique certains corps : les *polypeptides* qui ne

figurent pas dans le filtrat obtenu par l'acide trichloracétique à 20 pour 100 selon le procédé de Moog. Par contre en ce qui concerne les corps plus simples comme l'urée, la créatine, la créatinine, le glucose, les chiffres obtenus sont indépendants des variations d'acidité et de concentration et restent les mêmes quel que soit le procédé de désalbumination employé.

DOSAGE DE L'AZOTE NON PROTÉÏQUE ET DE SES CONSTITUANTS

Dosage colorimétrique de l'azote non protéique du sang par le réactif de Nessler (En coll. avec Fr. Guérin). *Société de Biologie*, 7 décembre 1918, p. 1139.

Procédé précis de dosage de l'urée dans de faibles quantités de sang (En coll. avec Fr. Guérin). *Société de Biologie*, 11 janvier 1919, p. 25.

Sur la mesure de la protéolyse microbienne (En coll. avec Fr. Guérin et Mme Pommay-Michaux). *Société de Biologie*, 25 janvier 1919, p. 66.

Le dosage de l'urée et de l'azote non protéique dans le sang et dans les tissus par le réactif de Nessler (En coll. avec Fr. Guérin). *Journal de Pharmacie et de Chimie*, 16 avril 1919, t. XIX, p. 233. — 1er mai 1919, t. XIX, p. 281.

Sur l'emploi de l'acide trichloracétique et du sulfate de cuivre comme adjuvants dans la méthode de Kjeldahl. Application à l'urine (En coll. avec J. Thiéry). *Société de Biologie*, 23 avril 1921, p. 716.

Procédé simplifié de dosage de l'azote non protéïque du sang (En coll. avec J. Thiéry). *Société de Biologie*, 5 novembre 1921, p. 812.

Dans des recherches poursuivies depuis 1918 avec mes collaborateurs F. Guérin, Mme Pommay-Michaux, J. Thierry, P. Zizine, Mlle Andrée Michaux et Gourdal je me suis efforcé d'adapter la réaction de Nessler au dosage de l'azote non protéique et de ses constituants dans le sang et les autres milieux organiques

Parallèlement à nos travaux une épreuve semblable était tentée en Amérique par Folin et ses collaborateurs dont l'aboutissant fut le mémoire de Folin et Wu publié en 1919[1].

Dans le procédé de Folin et Wu, le sang est désalbuminé par l'acide tungstique. Pour le dosage de l'azote non protéique le filtrat tungstique est traité par un mélange d'acide phosphorique et d'acide sulfurique selon les conditions de Kjeldahl de manière à transformer la totalité de l'azote qu'il contient en ammoniaque. Le mélange hydro-

1. A system of blood analyse. *Journ. of Biological Chemistry*, 1919, t. XXXVIII, p. 81.

lysé est ensuite additionné directement de réactif de Nessler en vue du dosage colorimétrique.

Pour le dosage de l'urée, l'hydrolyse est obtenue au moyen de l'uréase de la fève Jacques, qui transforme l'urée en carbonate d'ammoniaque sans toucher aux autres substances azotées. Folin et Wu font agir l'uréase sur le filtrat tungstique et déplacent ensuite l'ammoniaque par entraînement à l'air ou par distillation. C'est dans la solution ammoniacale ainsi obtenue qu'ils pratiquent la nesslérisation.

Le procédé de Folin et Wu est passible de quelques critiques. Tout d'abord, dans le dosage de l'azote non protéique, la solution colorée obtenue par nesslérisation directe n'est pas absolument limpide et présente souvent un léger louche qui gêne la détermination colorimétrique. Il est vrai que ce trouble, dû en majeure partie à l'attaque du verre par l'acide phosphorique de la mixture d'hydrolyse, peut être séparé par centrifugation, mais on s'expose alors à des pertes dues à l'entraînement partiel de la matière colorante par le précipité. Dans le dosage de l'urée, l'entraînement par l'air ou la distillation constituent des complications inutiles qui peuvent être évitées.

Les recherches poursuivies de notre côté ont abouti à l'édification de procédés de dosage dans lesquels ne se retrouvent pas les inconvénients précédents et qui *permettent d'utiliser dans tous les cas la nesslérisation directe sans qu'il se produise de troubles et sans qu'il soit nécessaire d'avoir recours à l'entraînement par l'air ou à la distillation.*

Pour mener à bien cette entreprise, il fallait préalablement obtenir un réactif de Nessler qui ne donne aucun trouble avec les milieux complexes tels qu'ils sont constitués par les filtrats désalbuminés après action des réactifs hydrolysants. En réduisant les doses d'alcali contenues dans le réactif classique, en cherchant les proportions optimum d'iodure de potassium et de biodure de mercure, je suis arrivé à établir une formule de réactif de Nessler dont voici la composition et qui donne une coloration parfaitement stable dans les conditions précédentes :

Iodure de potassium.	10 gr.
Biiodure de mercure.	12 gr. 50.
Lessive de soude à 36°.	200 cm³.
Eau distillée. . . . . q. s. p.	1 000 cm³.

Dans ces procédés de dosage, la transformation en ammoniaque

des substances azotées a été très facilitée par la présence de l'acide trichloracétique. J'ai montré avec J. Thiéry que l'acide trichloracétique constitue un adjuvant particulièrement efficace dans la méthode de Kjeldahl.

Ajouté à l'acide sulfurique bouillant contenu dans un ballon, l'acide trichloracétique se décompose *lentement* en acide chlorhydrique, acide carbonique et oxyde de carbone. Dans les conditions de Kjeldahl, on voit l'acide trichloracétique distiller, se condenser sur les parois du ballon et retomber sur l'acide sulfurique provoquant un renouvellement continuel de la matière oxydante au sein de la mixture d'hydrolyse. En même temps s'opère un rinçage méthodique des parois du ballon entraînant constamment les particules charbonneuses vers le liquide sulfurique. Ces avantages réunis font que ce procédé gagne en rapidité sur la plupart des procédés classiques. L'hydrolyse est poussée plus avant et les chiffres obtenus sont un peu plus élevés que dans la kjeldahlisation telle qu'on la pratique habituellement.

Mais l'acide trichloracétique est en même temps un excellent désalbuminant; son utilité dans le dosage de l'azote non protéique pourra ainsi se manifester doublement dans la désalbumination et dans l'hydrolyse. Il offre d'autre part l'avantage de ne pas s'opposer à la nesslérisation directe car il n'occasionne pas comme l'acide phosphorique d'attaque du verre et disparaît complètement du mélange d'hydrolyse en fin d'opération.

J'ai donné plusieurs applications de ces procédés pour le dosage de l'azote total dans l'urine, de l'azote non protéique et de l'urée dans le sang, et des divers produits de la protéolyse microbienne dans les cultures microbiennes.

DOSAGE DE L'AZOTE TOTAL DANS L'URINE

Placer dans un ballon de Kjeldahl de 250 centimètres cubes environ :

Urine..	10 cm³
Acide trichloracétique à 20 pour 100.. .	10 cm³
Acide sulfurique à 66°.	5 cm³
Solution de sulfate de cuivre à 10 pour 100.	IV gouttes

Porter le mélange à l'ébullition. Couvrir l'ouverture du ballon à l'aide d'un entonnoir dès qu'apparaissent les vapeurs blanches et

chauffer jusqu'à décoloration complète de la liqueur. La mixture ainsi obtenue se prête facilement au dosage de l'ammoniaque par l'un quelconque des procédés connus et par la nesslérisation directe.

Dans le cas d'urines albumineuses où l'on désire pratiquer le dosage sur l'urine désalbuminée, il suffit de filtrer préalablement un mélange à parties égales d'urine et d'acide trichloracétique à 20 pour 100 et d'en prélever 20 centimètres cubes.

DOSAGE DE L'AZOTE NON PROTÉIQUE DANS LE SANG

SOLUTIONS ET RÉACTIFS NÉCESSAIRES

1° Réactif de Nessler :

Iodure de potassium.		10 gr.
Biiodure de mercure.		12 gr. 50.
Lessive de soude à 36°.		200 cm³.
Eau distillée.	q. s. p.	1 000 cm³.

Faire dissoudre l'iodure de potassium et le biiodure dans l'eau; ajouter la lessive de soude et le reste de l'eau distillée. Abandonner au repos *pendant un mois ou deux* jusqu'à clarification complète. N'utiliser qu'un réactif parfaitement clair et limpide dont on décantera la quantité nécessaire au moment du besoin.

2° Solution étalon de sulfate d'ammoniaque :

Dissoudre 4gr,716 de sulfate d'ammoniaque pur et desséché dans un litre d'eau additionnée d'acide sulfurique pour réaliser une solution de SO^4H^2 n/5 (de manière à empêcher le développement des moisissures). Diluer cette solution au 1/100e. On constituera ainsi une solution étalon titrée de sulfate d'ammoniaque dont chaque centimètre cube contient 1/100e de milligramme d'azote.

TECHNIQUE

Désalbuminer le sérum en le précipitant par son volume d'acide trichloracétique à 20 pour 100. Agiter et filtrer.

Si l'on désire comprendre les *polypeptides* dans le dosage, on désalbuminera par l'acide métaphosphorique. Prélever alors dans les proportions suivantes :

Sérum.	10 cm³
Eau distillée.	6 cm³
Solution de métaphosphate de soude à 20 pour 100..	2 cm³
Solution binormale d'acide chlorhydrique.. . .	2 cm³

Mélanger le sérum, l'eau et la solution de métaphosphate de soude ; ajouter ensuite l'acide chlorhydrique, agiter et filtrer.

Dans l'un et l'autre cas on obtiendra un filtrat désalbuminé correspondant à la moitié de son volume de sérum.

Placer dans un grand tube à essai en pyrex :

Filtrat désalbuminé..	2 cm³
Acide sulfurique à 66°..	1 cm³
Solution de sulfate de cuivre à 10 pour 100.. .	une goutte

Chauffer le tube placé sur un support d'abord fortement pour éliminer l'eau, puis plus doucement lorsque la masse commence à charbonner. Continuer la chauffe jusqu'à décoloration complète de la liqueur qui ne garde plus alors qu'une légère teinte bleue due à la présence du cuivre.

Laisser refroidir et entraîner le contenu du tube au moyen d'eau distillée dans un vase gradué de 100 centimètres cubes. Ajouter de l'eau jusqu'à concurrence de 70 centimètres cubes.

Dans un second vase gradué semblable au précédent placer 25 centimètres cubes de solution étalon de sulfate d'ammoniaque, 1 centimètre cube d'acide sulfurique à 66°, une goutte de solution de sulfate de cuivre à 10 pour 100 et q. s. d'eau pour 70 centimètres cubes.

Nesslériser simultanément les deux solutions en complétant les volumes à 100 centimètres cubes au moyen du réactif de Nessler précédent. Mélanger.

L'égalité de teinte des deux solutions correspond à 0gr,25 d'azote non protéique, teneur normale du sérum. L'écart des colorations sera apprécié au colorimètre de Duboscq et on en déduira après unification des teintes la teneur en azote non protéique du sérum examiné, en appliquant la formule connue :

$$hc = h'c'$$

où h représente la hauteur correspondant à la solution à doser, c le titre inconnu correspondant à cette solution, h' et c' la hauteur et le

titre correspondants à l'étalon. Dans le cas particulier cette formule devient

$$hc = h' \times 0^{gr},25,$$

d'où c teneur du litre de sérum en azote non protéique égale :

$$0^{gr},25 \times \frac{h'}{h}.$$

Dans le cas d'azotémie et pour les globules, on opérera sur une prise d'essai plus faible de manière à obtenir toujours une teinte voisine de celle de l'étalon et on tiendra compte de cette moindre prise d'essai dans les calculs.

Normalement la teneur en azote non protéique du sérum humain est de $0^{gr},24$ par litre déterminé avec l'acide trichloracétique et de $0^{gr},32$ par litre déterminé avec l'acide métaphosphorique.

DOSAGE DE L'URÉE DANS LE SANG

Solutions et réactifs nécessaires.

Réactif de Nessler. Même formule que précédemment pour le dosage de l'azote non protéique.

Solution d'uréase.

Dans un flacon de 250 centimètres cubes bouchant à l'émeri placer :

Farine de soja.	10 gr.
Phosphate acide de soude.	0 gr. 60.
Permutite lavée.	2 gr.
Eau..	100 cm³.

Laisser en contact pendant une demi-heure en agitant de temps en temps et filtrer. On obtient une solution plus ou moins opalescente qui doit être renouvelée dans les deux jours.

Technique.

Dans une éprouvette de 30 centimètres cubes placer $0^{cm^3},3$ de sérum et 2 centimètres cubes de solution d'uréase. Laisser en contact pen-

dant un quart d'heure à la température ordinaire en agitant de temps en temps.

Ajouter de l'eau distillée jusqu'à la division 29, mélanger. Ajouter ensuite $0^{cm^3},5$ de solution de métaphosphate de soude à 20 pour 100; mélanger à nouveau, puis ajouter $0^{cm^3},5$ d'acide chlorhydrique binormal, agiter et filtrer. Le filtrat ainsi obtenu correspond au centième de son volume de sérum et contient l'urée entièrement sous forme de carbonate d'ammoniaque.

Dans une première éprouvette placer 20 centimètres cubes du filtrat précédent et 5 centimètres cubes de réactif de Nessler.

Dans une seconde éprouvette placer 3 centimètres cubes de la solution étalon de sulfate d'ammoniaque dont chaque centimètre cube équivaut à 1/100e de milligramme d'azote. Compléter à 20 centimètres cubes avec de l'eau distillée et ajouter comme précédemment 5 centimètres cubes de réactif de Nessler.

Dans ces conditions l'égalité de teinte des deux solutions correspond à une teneur du sérum en urée de $0^{gr},32$ par litre (soit $0^{gr},15$ d'azote uréique). Les solutions sont examinées au colorimètre de Dubocsq et la teneur en urée du sérum est calculée d'après la formule habituelle

$$hc = h'c'$$

dans laquelle h est la hauteur correspondant au sérum, c la teneur en urée cherchée du sérum, h' et c' la hauteur et le titre en urée correspondant à l'étalon. Dans le cas particulier précédent on aura

$$hc = h' \times 0^{gr},32.$$

D'où c, teneur en urée du sérum examiné, égale

$$0^{gr},32 \times \frac{h'}{h}.$$

Dans le cas de sérums très riches en urée (azotémiques), la solution désalbuminée sera étendue avant d'être nesslérisée, de manière à obtenir une teinte voisine de celle de l'étalon. On tiendra compte de cette dilution dans les calculs.

Ce procédé donne l'azote uréique augmenté de l'azote ammoniacal qu'il faudrait déduire du chiffre obtenu pour avoir le chiffre réel d'azote de l'urée.

DOSAGE DES PRODUITS DE PROTÉOLYSE MICROBIENNE DANS LES MILIEUX DE CULTURE

En collaboration avec Fr. Guérin et Mme Pommay-Michaux, j'ai appliqué les principes précédents de la nesslérisation directe au dosage de l'azote sous ses différents états dans les milieux de culture. Nous avons pu ainsi déterminer la marche de la protéolyse microbienne par des dosages en série de l'*azote total*, de l'*azote protéique*, de l'*azote des protéoses*, de l'*azote non protéique*, de l'*azote ammoniacal*.

Production d'azote non protéique par les microbes protélytiques.

(Les chiffres sont exprimés en azote et en centigrammes par litre de culture.)

ESPÈCES MICROBIENNES	TUBES TÉMOINS NON ENSEMENCÉS		JOURS DE LA CULTURE					
	N total	N non protéique	1	2	4	8	16	32
B. sporogenes. / *B. perfringens.*	175	8	69	137	175	Protéolyse totale.		
B. sporogenes.	187	8	18	76	108	187	Protéolyse totale.	
B. bifermentans.	190	8	14	70	130	168	190	Protéolyse totale.
B. proteus.	190	8	10	18	73	92	156	»
B. anthracoïdes.	170	8	19	35	49	80	120	140
B. histolyticus.	190	8	11	14	19	65	100	»
B. perfringens.	170	8	36,5	51	70	88	88	88
B. fallax.	190	8	10	11	12	21	64	82
Vibrion septique.	163	8	8	10	12	12	56	80
B. œdematicus.	180	8	8	12	15,5	15,5	28	43
B. putrificus.	190	8	12	15	18	18	18	18
Staphylocoque doré.	175	8	8	11	11	11	11	11

Les cultures ont été faites sur le milieu à l'œuf dans le vide à 37°, sauf pour le *B. proteus*, le *B. anthracoïdes* et le *Staphylocoque doré* où elles ont été faites à 37° en aérobiose.

Ces recherches nous ont permis de classer dans l'ordre suivant les microbes des plaies de guerre d'après leur activité protéolytique : *B. sporogenes, B. bifermentans, B. proteus, B. anthracoïdes, B. histolyticus, B. perfringens, B. fallax, Vibrion septique, B. œdematiens, B. putrificus* et *Staphylocoque doré.* Les deux tableaux ci-joints sont un exemple de ces recherches et montrent la production plus ou moins rapide d'ammoniaque et d'azote non protéique par les différents microbes protéolytiques cultivés sur le milieu à l'œuf. Ils montrent en outre comment des microbes comme le *B. sporogenes* et le *B. perfringens* qui déjà possèdent une activité protéolytique intense lorsqu'ils sont isolés, voient cette activité s'accroître dans des proportions notables lorsqu'ils sont associés.

Production d'ammoniaque par les microbes protéolytiques.

(Les chiffres sont exprimés en azote et en centigrammes par litre de culture.)

ESPÈCES MIBROBIENNES	TUBES TÉMOINS NON ENSEMENCÉS		JOURS DE LA CULTURE					
	N total	N ammoniaque	1	2	4	8	16	32
B. sporogenes. *B. perfringens.*	175	0	»	»	»	50	60	64
B. sporogenes	187	0	4	7	28	50	50	»
B. bifermentans.	190	0	10	25	42	62	66	»
B. proteus.	175	0	»	»	26	36	»	»
B. anthracoïdes.	170	0	»	»	»	»	18	»
B. perfringens.	170	0	»	»	»	»	»	11
B. œdematiens.	180	0	»	»	»	9	»	»

Les cultures ont été faites sur le milieu à l'œuf dans le vide à 37° sauf pour le *B. anthracoïdes* et le *B. proteus* où elles ont été faites a 37° en aérobiose.

PATHOGÉNIE DU CHOC TRAUMATIQUE

L'intoxication par les plaies de guerre. Pathogénie du shock (En coll. avec P. Duval). *Comptes rendus de l'Académie des sciences*, 14 octobre 1918, p. 562.
L'intoxication par les plaies de guerre. La rétention azotée des blessés (En coll. avec P. Duval). *Société de Biologie*, 19 octobre 1918, p. 873.
L'intoxication par les plaies de guerre. La désintégration azotée des tissus traumatisés (En coll. avec P. Duval). *Bull. et Mém. de la Soc. de Chirurgie de Paris*, 22 octobre 1918, p. 1506.
La théorie du shock toxique et la toxémie microbienne (En coll. avec P. Duval). *Bull. et Mém. de la Soc. de Chirurgie de Paris*, 1er avril 1919, p. 565.
Conception actuelle du choc. *Archivos de Medicina, cirurgia y especialidades*, 1922, p. 201.

Les procédés précédents ont reçu une première application dans les recherches que j'ai poursuivies avec M. le Pr Pierre Duval concernant la pathogénie du choc traumatique chez les blessés de guerre.

Déjà au mois de mai 1916, M. le Pr Quénu avait émis l'idée que le choc des blessés de guerre avait pour cause la résorption de produits d'origine albuminoïde résultant de l'écrasement des tissus. J'ai pu montrer avec P. Duval que les phénomènes toxiques du choc sont corrélatifs d'une désintégration azotée intense et rapide des tissus traumatisés avec passage dans le sang des substances azotées *normalement retenues par la cellule vivante*.

Alors que normalement la teneur du muscle humain, comme d'ailleurs la teneur du muscle de tous les mammifères en général est de 3gr,50 environ d'azote non protéique par kilogramme; on voit cette teneur baisser notablement dans le cas de muscles traumatisés. Nous l'avons trouvée dans différentes occasions égale à 1gr,80, 2 grammes, 1gr,10, 1gr,81...

Parallèlement à cette diminution des substances azotées non protéiques dans le muscle contus, on note une augmentation de ces

mêmes substances dans le sang du blessé. Cette augmentation est peu importante chez les blessés non choqués, mais elle prend des valeurs considérables chez le blessé choqué et constitue en quelque sorte la signature de l'état de choc. Il n'est pas un blessé choqué, parmi ceux que nous avons examinés où nous n'ayions rencontré un chiffre d'azote sanguin non protéique au moins égal au double de la valeur normale de cet élément.

Par son intensité, l'augmentation des substances azotées non protéiques du sang des choqués peut être comparée à l'azotémie des brightiques. Mais tandis que la rétention azotée des brightiques est surtout une rétention d'urée, la rétention azotée des blessés choqués, comme nous avons pu le constater, est surtout constituée de substances azotées autres que l'urée.

L'évolution générale de la courbe des substances azotées qui figurent dans le sang des choqués est différente selon que le blessé s'achemine vers la guérison ou vers la mort. Lorsque le blessé doit guérir, l'azote total non protéique, un instant très augmenté, revient progressivement à la normale ; lorsque le blessé doit succomber, la courbe est au contraire régulièrement ascensionnelle et l'azote total non protéique ne cesse de croître jusqu'à la mort.

Ces faits, qui sont la confirmation de la théorie de M. Quénu ont contribué à éclairer la pathogénie du choc traumatique. Ils montrent comment le degré d'intoxication consécutif au traumatisme peut être fonction de l'étendue des territoires tissulaires frappés, en raison de l'abondance plus ou moins grande des substances azotées toxiques libérées des cellules lésées. Ils expliquent comment l'interposition d'un garrot entre le tissu traumatisé et la circulation générale peut empêcher ces substances de passer dans le sang et d'exercer leur effet nocif sur l'organisme. Ils montrent enfin par quel mécanisme l'amputation rapide ou l'exérèse large peuvent sauver le blessé de la mort en supprimant le foyer toxique.

V

UROBILINE ET BILIRUBINE

Au moment où je me suis occupé de la recherche de l'urobiline (1909), la présence de ce pigment dans le sang était encore en discussion. Certains auteurs pensaient même qu'en raison du fait qu'on ne trouvait que rarement l'urobiline dans le sang, alors qu'elle pouvait être abondante dans l'urine, cette substance prenait naissance au niveau du parenchyme rénal par réduction des pigments du sang. On sait aujourd'hui que toute urobilinurie s'accompagne d'urobilinémie et qu'il existe un certain rapport de proportionnalité entre les taux de l'urobiline dans l'urine, dans le sang, et dans les matières fécales.

Le procédé de recherche de l'urobiline dans le sang que j'ai indiqué a contribué à établir ces faits.

Dans les fèces la recherche de l'urobiline et des pigments biliaires peut être pratiquée par les méthodes employées pour l'urine, mais il était utile de posséder une réaction qui, au lit du malade, permette de juger immédiatement l'abondance de l'urobiline, dans les matières fécales de la présence ou de l'absence de pigments biliaires. Les réactions d'oxydation couramment employées en clinique (réaction au sublimé de Schmidt ou de Triboulet) offrent l'inconvénient de nécessiter un certain temps avant de donner une réponse. En substituant l'acide chlorhydrique et le perchlorure de fer au sublimé, j'ai institué un procédé qui permet d'obtenir une réaction instantanée.

RECHERCHE DE L'UROBILINE DANS LE SANG

Recherche de l'urobiline dans le sang et les humeurs de l'organisme. *Société de Biologie*, 8 mai 1909, p. 725.

10 à 20 centimètres cubes de sang ou de sérum placés dans un verre à pied sont additionnés de leur volume d'eau distillée et de 10 centimètres cubes du réactif suivant :

Perchlorure de fer officinal.	V gouttes
Acide acétique au 1/10ᵉ.	20 c. c.
Eau distillée.	80 c. c.

On sature le mélange de sulfate de soude, on le porte à l'ébullition dans une capsule en porcelaine en agitant, et on filtre dans une petite ampoule à robinet. Dans ces conditions, l'urobilinogène est transformé en urobiline qui passe dans le filtrat. Les pigments biliaires au contraire sont fixés par l'albumine coagulée et restent sur le filtre qu'ils colorent en vert plus ou moins intense selon leur proportion.

Au filtrat refroidi on ajoute 4 centimètres cubes de chloroforme thymolé à 15 pour 100, on agite légèrement et on laisse reposer. Le chloroforme se sépare entraînant l'urobiline qui lui communique une coloration rose plus ou moins intense selon sa qnantité. On filtre la solution chloroformique sur un petit tampon de coton hydrophile pour séparer les gouttelettes d'eau entraînées et on l'additionne goutte à goutte d'une solution d'acétate de zinc (acétate de zinc 3, acide acétique 1, alcool à 95° 500) jusqu'à cessation de précipité. Il se développe une fluorescence verte perçue directement à la lumière solaire lorsque l'urobiline est abondante.

Lorsque l'urobiline existe en moins grande proportion, les tubes sont examinés sous l'action d'un éclairage intensif selon la recommandation de Morel et Monod. Je me suis servi dans ce but de la lampe

Nernst qui est très pratique et donne d'excellents résultats. Cette lampe est enfermée dans un manchon métallique qui présente en un point une ouverture de 4 millimètres de diamètre. Un système convergent est placé entre le foyer éclairant et l'orifice du manchon. Muni de ce dispositif l'appareil est mis en activité à la chambre noire et les tubes, amenés contre l'orifice, sont examinés par réflexion tangentiellement au manchon.

Cette technique s'applique non seulement au sang, mais aux diverses sérosités, au liquide céphalo-rachidien et aux tissus. Dans le cas des tissus ceux-ci sont broyés, puis triturés avec leur poids de sulfate de soude. On ajoute ensuite un volume d'eau distillée, le réactif acéto-ferrique, on porte à l'ébullition, on filtre et on continue comme précédemment.

RECHERCHE DE L'UROBILINE ET DE LA BILIRUBINE DANS LES FÈCES

Sur la recherche de l'urobiline et de la bilirubine dans les fèces par l'oxydation directe. 8 février 1913, p. 265

Les fèces délayées dans l'eau chaude sont additionnées de un volume d'acide chlorhydrique concentré et de quelques gouttes de perchlorure de fer dilué au 1/20e que l'on laisse tomber à la surface du liquide sans agiter, Il se forme ainsi deux couches liquides présentant des degrés d'oxydation différents et qui permettent d'apprécier dans le même tube l'urobiline et la bilirubine ; une coloration rose de la couche inférieure indique la présence d'urobiline ; une coloration verte de la couche supérieure indique la présence de bilirubine.

Cette réaction n'est utilisable que lorsque la pigmentation des fèces est due exclusivement aux matières colorantes d'origine biliaire. Elle est spécialement indiquée dans l'ictère par rétention où elle permet d'apprécier commodément la courbe de l'élimination biliaire ; elle permet de dire notamment si l'on a affaire à de l'acholie pigmentaire absolue, ou si, malgré la dépigmentation apparente des matières fécales, il existe néanmoins une notable proportion d'urobilinogène dans l'intestin décelée par la coloration rose, ou de bilirubine décelée par la coloration verte

La réaction au perchlorure de fer est couramment employée dans le service du Pr Chauffard pour l'examen des matières fécales des ictériques. Elle a été étudiée par Paillard et Goiffon qui la considèrent comme très sensible. « Nous préférons, disent-ils, à la réaction au sublimé pour la bilirubine, la réaction de Grigaut. Cette réaction très sensible permet de déceler des traces de bilirubine, alors que la

réaction au sublimé n'en a pas indiqué » (*Le Journal médical français,* février 1922). Par contre elle serait moins sensible que la réaction au sublimé vis-à-vis de la stercobiline. « D'ailleurs, ajoute Goiffon dans son *Manuel de coprologie clinique,* il semble qu'il existe un état des pigments biliaires intermédiaire entre la birubine et la stercobiline, où ils réagissent en rouge au sublimé, en vert au perchlorure de fer... Selon nous, une contradiction entre la réaction de Grigaut indiquant bilirubine et celle du sublimé indiquant stercobiline, montre que le pigment est en voie de transformation : les selles ont subi un séjour trop court dans le colon. »

VI

TOXINES DIPHTÉRIQUE ET TÉTANIQUE

Considérations sur la méthode de l'intracérébro-inoculation pour la recherche des toxines dans le névraxe. Fixation de la toxine diphtérique sur la substance nerveuse (En coll. avec Georges Guillain et Guy Laroche). *Société médicale des hôpitaux,* 12 nov. 1909, p. 544.

Adsorption et activation de la toxine diphtérique par la substance nerveuse et ses lipoïdes phosphorés (En coll. avec Guy Laroche). *Société de Biologie,* 1er avril 1911, p. 516.

Rôle des protéines dans l'adsorption et la neutralisation de la toxine tétanique par la substance nerveuse (En coll. avec Guy Laroche). *Société de Biologie,* 29 avril 1911, p. 657.

Étude biologique et chimique de l'adsorption des toxines diphtérique et tétanique par la substance nerveuse et des phénomènes corrélatifs (En coll. avec Guy Laroche). *Annales de l'Institut Pasteur,* décembre 1911, p. 892.

J'ai montré avec Georges Guillain et Guy Laroche que la toxine diphtérique possède *in vitro* une affinité spéciale pour la substance nerveuse de tous points comparable à celle qu'elle possède *in vivo.* Mise en contact avec le cerveau, la toxine diphtérique se fixe énergiquement sur lui et lui communique ses propriétés toxiques. Il s'agit bien là d'une propriété spéciale de la substance nerveuse car différents corps pris au hasard, les uns absolument distincts de la substance nerveuse, les autres s'en rapprochant plus ou moins, traités dans les mêmes conditions ne conduisent pas aux mêmes résultats. C'est ainsi que la brique pilée, l'albumine précipitée, l'axonge, nous ont donné des résultats négatifs, tandis que la substance cérébrale témoin entraînait invariablement la mort des animaux. Ajoutons

toutefois qu'une épreuve semblable pratiquée avec l'extrait éthéré de jaune d'œuf a déterminé chez un cobaye un léger malaise durant vingt-quatre heures.

Une constatation analogue avait déjà été faite par Wassermann et Takaki pour la toxine tétanique. Ces auteurs ont montré que le cerveau fixe énergiquement la toxine tétanique mais ici cette fixation est accompagnée d'une *neutralisation* de la toxine, tandis que ce phénomène n'a pas lieu pour la toxine diphtérique fixée qui garde intacte ses propriétés.

Ces faits montrent que pouvoir fixateur et pouvoir neutralisant ne sauraient être confondus. Ceci est vrai non seulement pour la toxine diphtérique mais également pour la toxine tétanique. En effet si dans l'expérience de Wassermann et Takaki, telle que la pratiquent les auteurs, la toxine absorbée se trouve entièrement neutralisée, il est toutefois possible de fixer sur le cerveau plus de toxine qu'il n'en peut neutraliser et, dans ce cas, une partie du poison quoique adhèrent à la substance nerveuse garde ses propriétés tétanigènes.

L'étude des affinités de la substance nerveuse pour les toxines peut donc être comprise de plusieurs façons et avant d'exposer nos recherches sur ce sujet, avons-nous pris soin de définir exactement ce que nous entendions par pouvoir adsorbant, pouvoir fixateur et pouvoir neutralisant d'une substance vis-à-vis d'une toxine donnée.

Le *pouvoir adsorbant* est la quantité de toxine qu'un poids déterminé de substance est susceptible de soustraire à un certain volume d'une dilution donnée de cette toxine. La toxicité du liquide débarrassé de la matière adsorbante en est la mesure.

Le *pouvoir neutralisant* est la quantité maxima de toxine qu'un poids déterminé de substance peut rendre inactive en injection à des animaux.

Le *pouvoir fixateur* se mesure par la toxicité qu'acquiert un poids donné de substance plongée dans une certaine dilution de toxine, et privée ensuite du poison en excès par lavages répétés. Il est bien entendu que ce terme ne présume en rien du sort de la toxine, que celle-ci soit intégralement fixée ou en partie neutralisée.

A ces définitions il convient d'ajouter encore le *pouvoir activant*. Certaines toxines comme la toxine diphtérique, la tuberculine et la malléine sont non plus neutralisées, mais au contraire activées par la substance cérébrale, soit qu'il s'agisse réellement d'une augmentation

de toxicité (tuberculine, malléine), soit qu'il s'agisse simplement d'une réduction de la période d'incubation ou d'un raccourcissement de la maladie expérimentale (toxine diphtérique). Ces données permettront selon le cas de mesurer le pouvoir activant.

Nos recherches ont porté particulièrement sur les deux toxines diphtérique et tétanique dont nous nous sommes efforcés de préciser le mode d'adsorbtion par la substance nerveuse. Nous avons cherché à dissocier le phénomène et à reconnaitre parmi les constituants chimiques ceux auxquels la substance nerveuse doit dans chaque cas ses propriétés adsorbantes vis-à vis d'une toxine donnée.

ADSORPTION DE LA TOXINE DIPHTÉRIQUE PAR LA SUBSTANCE NERVEUSE

POUVOIR FIXATEUR DU CERVEAU VIS-A-VIS DE LA TOXINE DIPHTÉRIQUE

Les travaux précédents, déjà nombreux, concernaient presque uniquement la tétanotoxine et l'on peut se demander pourquoi l'étude de la toxine diphtérique a été si longtemps laissée de côté. C'est que les auteurs, ayant constamment en vue le phénomène si curieux de la neutralisation signalée par Wassermann et Takaki, reconnurent vite que le cerveau ne possédait aucun pouvoir neutralisant vis-à-vis de la toxine diphtérique, et que celle-ci ne pouvait, par conséquent, nullement convenir à leurs recherches. Envisageant cette étude d'une façon beaucoup plus large et cherchant à préciser non la seule neutralisation, mais le phénomène général de l'adsorption des toxines avec toutes ses modalités, nous avons été amenés à étudier les affinités spéciales du tissu nerveux pour la toxine diphtérique.

Les faits cliniques et expérimentaux que nous avions observés mettaient nettement en évidence ce phénomène biologique de la fixation de la toxine diphtérique sur le tissu nerveux *in vivo* ; poursuivant ces recherches, nous avons pu constater qu'on pouvait la reproduire facilement *in vitro*.

Il suffit en effet de mettre en contact la toxine diphtérique avec de la substance nerveuse pour conférer à celle-ci des propriétés toxiques qui subsistent, malgré des lavages répétés à l'eau physiologique. Il s'agit donc bien là d'une fixation, et j'ai entrepris avec Guy Laroche l'étude de ce pouvoir fixateur au moyen de la technique suivante :

0gr,50 de matière cérébrale ou de substance à étudier sont mis en contact à la glacière, soit dans un ballon, soit dans un tube couché, avec 20 centimètres cubes

de toxine diluée au 1/20, 50 centimètres cubes d'une dilution au 1/50, 100 centimètres cubes d'une dilution au 1/100, etc. La substance est recueillie après douze heures de macération et placée dans un tube à centrifugation, d'environ 50 centimètres cubes, rempli d'eau physiologique. On laisse en contact une demi-heure à une heure et on centrifuge. Le dépôt est recueilli, placé dans un autre tube de sérum artificiel et traité identiquement. Après quatre ou cinq lavages, l'excès de toxine non fixée est complètement éliminé. Il nous a été d'ailleurs facile de nous assurer à plusieurs reprises que les derniers liquides de lavage, injectés en plus ou moins grande quantité dans la cavité péritonéale ou dans le tissu sous-cutané des cobayes, ne déterminaient aucun trouble. Il va sans dire que ces diverses manipulations doivent être conduites aseptiquement et, en particulier, l'on ne doit employer que des instruments, des vases et de l'eau physiologique stériles.

La substance recueillie après un dernier lavage est égouttée et injectée à des cobayes, à la dose de 1/5e de centimètre cube par voie sous-cutanée intrapéritonéale ou par inoculation sous-dure-mérienne, selon le cas. Cette dernière pratique est de beaucoup la plus sensible et permet de déceler des traces de poison. Elle est aussi la plus précise, car c'est la seule qui puisse donner des résultats toujours comparables, le produit toxique étant porté immédiatement au niveau du tissu nerveux sans le secours de l'organisme.

La maladie expérimentale déterminée par cette injection intra-crânienne de cerveau toxique dure exceptionnellement plus de vingt-quatre heures; l'animal ne présente aucun trouble immédiatement après l'injection et dans les heures qui suivent, puis il tombe sur le flanc et meurt généralement entre la sixième et la huitième heure.

Des cultures ont prouvé qu'il n'y avait pas d'infection secondaire et, d'ailleurs, la rapidité de l'évolution de la maladie est telle qu'elle permet de rejeter toute cause infectieuse. En outre, des expériences de contrôle ont été faites chaque fois, avec les mêmes substances, ayant subi toutes les manipulations, à l'exception du contact avec la toxine, et les cobayes témoins sont restés indemnes.

D'autre part, on ne trouve à l'autopsie aucune trace de piqûre cérébrale et les cas s'accompagnant d'hémorragie méningée accidentelle ou de troubles immédiats, par suite d'une injection mal faite, doivent être rejetés, quel que soit le résultat final de l'injection. Avec un peu de pratique, l'inoculation intra-crânienne se fait, d'ailleurs, avec grande facilité, et ces accidents, très facilement reconnaissables, se produisent rarement.

La matière cérébrale possède un pouvoir fixateur considérable vis-à-vis de la toxine diphtérique, puisque, traitée par la solution de toxine au 1/20, puis injectée après lavages sous la peau des cobayes, elle détermine une intoxication diphtérique typique; les résultats sont encore plus probants si l'on a recours à l'inoculation intra-duremérienne, car on peut provoquer ces accidents même avec la toxine diluée au 1/200. La substance nerveuse toxique possède les propriétés de la toxine diphtérique et peut être neutralisée *in vitro* par l'antitoxine : du cerveau toxique mis à macérer pendant douze heures avec de l'anti-toxine, puis lavé et injecté à des cobayes, ne détermine plus aucun trouble, Le parallélisme d'action se poursuit dans l'expérience de Roux et Borrel, et si l'on injecte de la substance nerveuse toxique dans la cavité crânienne de cobayes immunisés par le sérum antidiphtérique, la mort ou des paralysies peuvent s'ensuivre tout comme avec la toxine diphtérique.

Du fait de cette première série d'expériences, on peut dire que : la *substance nerveuse a fixé énergiquement la toxine diphtérique et que le poison ainsi fixé n'a perdu aucune de ses propriétés biologiques.*

Nous avons cherché ensuite à préciser ce phénomène en essayant de déterminer les substances auxquelles le tissu nerveux doit ses affinités pour la toxine diphtérique.

Tout d'abord, les extraits obtenus, en épuisant le cerveau desséché successivement par l'alcool, l'éther, le chloroforme et évaporant ensuite ces liquides dans le vide, se sont montrés énergiquement fixateurs, contrairement au résidu final de ces divers épuisements, qui contenait les substances protéiques déshydratées. Le rôle actif des lipoïdes apparaissait ainsi nettement. Dans le but de préciser ce premier fait, différents principes ont été extraits du cerveau humain et étudiés isolément. Nous avons toujours évité, dans leur préparation, l'emploi d'agents physiques ou chimiques trop énergiques, susceptibles d'altérer leurs caractères physiques essentiels ou de modifier trop profondément leur état chimique initial. Nous avons ainsi préparé les différentes substances correspondant aux groupes suivants :

I. *Le groupe de la cholestérine.* Le produit qui a servi à nos recherches a été préparé en épuisant par l'acétone la bouillie de cerveau déshydratée par lavages répétés à l'alcool. Les solutions acétoniques abandonnèrent, par évaporation, la cholestérine cristallisée qui a été

purifiée par cristallisations successives dans un mélange d'alcool et d'acétone.

II. *Le groupe des cérébrosides.* Nous avons employé la cérasine et la phrénosine, extraites du cerveau d'après la technique de Thudichum, et la cérébrine préparée selon les indications de Parkus.

III. *Le groupe des phosphatides.* Nous avons utilisé la lécithine et la céphaline, retirées du cerveau humain et préparées à froid selon les techniques décrites par Cousin.

IV. *Le groupe du protagon.* Ce corps, combinaison de lipoïdes phosphorés et de cérébrosides est très instable et les diverses techniques qui servent à sa préparation donnent des produits différents. Pour l'obtenir, en réduisant au minimum les chances d'altération, la bouillie de cerveau, lavée plusieurs fois à l'éther glacé, a été épuisée par l'alcool à 85 pour 100 à la température de 45 degrés, et les solutions alcooliques réunies ont été filtrées à la même température, puis abandonnées à la glacière. Dans ces conditions le protagon se dépose, mêlé à des traces de phosphatides et de cholestérine ; on le purifie en le lavant plusieurs fois à l'éther froid, le reprenant par l'alcool à 85 degrés tiède et laissant refroidir lentement la solution. Nous avons obtenu ainsi des flocons blancs, neigeux, d'un protagon parfaitement cristallisé, qui a été lavé à l'eau pour éliminer les dernières traces d'alcool et soumis aux expériences biologiques sans être desséché.

V. *Le groupe des protéines.* — Les meilleurs résultats nous ont été fournis par les substances albuminoïdes préparées de la façon suivante : un cerveau humain, privé de sang et débarrassé de ses méninges, est réduit en bouillie, puis placé dans un récipient avec 5 litres de solution de chlorure de sodium à 10 pour 100. On agite énergiquement et on abandonne le mélange à la glacière pendant vingt-quatre heures. La matière cérébrale se dépose et le liquide surnageant, décanté et filtré, est additionné de 1 500 grammes de sulfate d'ammoniaque, puis replacé à la glacière.

Au bout de douze heures, les matières protéïques qui se sont séparées sont recueillies et privées, par une centrifugation énergique, du liquide qui les accompagne, puis soumises à la dialyse.

Il va sans dire que ces diverses manipulations doivent être conduites aseptiquement, et l'on ne doit employer que des vases et des liquides stérilisés. La substance que l'on obtient, formée par des

globulines et la cérébronucléoalbumine, est soumise immédiatement aux épreuves d'adsorption.

Dans le cas particulier de la toxine diphtérique, les lipoïdes appartenant aux deux premiers groupes : cholestérine et cérébrosides, possèdent un pouvoir fixateur nul, c'est-à-dire que, plongés même dans la toxine pure ils ne manifestent, après lavages, aucune propriété toxique. Les *lipoïdes phosphorés* du troisième groupe sont les substances fixatrices par excellence et ce sont eux qui donnent aux extraits de cerveau mentionnés plus haut toute leur activité. Le protagon, quoique moins énergique, fixe encore la toxine dans les dilutions au 1/20, et son infériorité sur les autres phosphatides n'a rien qui doive nous surprendre si l'on songe que dans sa molécule entre une forte proportion de cérébrosides, corps qui ne fixent pas la toxine diphtérique.

Pouvoir fixateur du cerveau et de ses constituants vis-à-vis de la toxine diphtérique. (Injections sous-cutanées au cobaye.)

SUBSTANCE INJECTÉE SOUS LA PEAU DES COBAYES à la dose de 0,2 centimètre cube.	TITRE DES SOLUTIONS DE TOXINE DIPHTÉRIQUE DANS LESQUELLES ONT SÉJOURNÉ 12 HEURES 0 gr. 50 de la substance injectée, et résultats obtenus.				
	1/100	1/50	1/20	1/10	PURE
Cerveau.	nég.	»	nég. nég.	»	pos.
Extrait alcoolique	»	»	pos.	»	pos.
Protagon	»	»	nég.	nég.	nég.
Albuminoïdes	»	»	nég. nég.	nég. nég.	nég. nég.
Le nombre des mots nég. et pos. indique le nombre des cobayes inoculés.					

Quant aux substances protéiques isolées, suivant le procédé que nous avons exposé, elles se sont montrées inaptes à fixer la toxine diphtérique. Ce résultat est d'autant plus intéressant que ces mêmes substances mises en présence de la toxine tétanique, comme nous le verrons plus loin, la fixent énergiquement et sont capables ensuite de tétaniser des souris.

Il ne faut pas perdre de vue que, d'une façon générale, ces phénomènes de fixation se produisant *in vitro* sur des corps séparés bruta-

lement de la matière nerveuse ne peuvent donner qu'une indication générale sur le rôle réel de ces substances dans l'organisme, là ou leur activité peut se trouver considérablement accrue grâce à l'intégrité de leurs propriétés physico-chimiques.

Pouvoir fixateur du cerveau et de ses constituants vis-à-vis de la toxine diphtérique. (Injections intra-craniennes au cobaye.)

SUBSTANCE INJECTÉE DANS LE CRANE DES COBAYES à la dose de 0,2 centimètre cube	TITRE DES SOLUTIONS DE TOXINE DIPHTÉRIQUE DANS LESQUELLES ONT SÉJOURNÉ 12 HEURES 0 gr 50 de la substance injectée et résultats obtenus					
	1/200	1/100	1/50	1/20	1/10	PURE
Cerveau frais.	pos.	pos. pos. pos.	pos. pos.	»	pos.	pos. pos.
Cerveau desséché.	»	pos	»	»	»	»
Extrait alcoolique (formé en majeure partie de lipoïdes phosphorés).	»	»	pos. pos pos	pos. pos pos.	»	»
Extrait chloroformique.	»	pos.	pos	pos. pos pos.	»	»
Extrait éthéré (formé de lipoïdes phosphorés et de cholestérine).	»	pos	pos.	pos. pos. pos	»	»
Protagon..	»	nég.	pos.	pos.	pos.	»
Résidu de cerveau traité par l'alcool, éther, chloroforme (ne contient que des albuminoïdes déshydratées).	»	»	»	nég nég.	»	»
Cholestérine.	»	»	»	nég. nég.	»	nég nég nég. nég.
Cérébrine.	»	»	»	nég. nég.	» nég.	nég. nég.
Cérébroprotéines.	»	»	»	nég. nég	»	nég. nég

Le nombre des mots nég. et pos. indique le nombre des cobayes inoculés.

PROPRIÉTÉS DES COMPLEXES FORMÉS PAR LE TISSU NERVEUX OU SES CONSTITUANTS CHIMIQUES AVEC LA TOXINE DIPHTÉRIQUE

A. — *Pouvoir activant de la substance nerveuse et de ses lipoïdes phosphorés vis-à-vis de la toxine diphtérique.*

Les expériences précédentes démontrent que le cerveau et ses lipoïdes phosphorés rendus toxiques gardent les propriétés du poison diphtérique : le cerveau toxique est neutralisé *in vitro* par l'antitoxine, et injecté dans la cavité crânienne de cobayes immunisés par le sérum antidiphtérique, il les tue tout comme la toxine libre.

Mais il y a plus, car nous avons constaté que non seulement la toxine fixée n'a perdu aucune de ses propriétés biologiques; au contraire, le simple fait d'être combinée à la substance nerveuse semble lui avoir conféré une recrudescence de toxicité. Le cerveau et ses lipoïdes phosphorés possèdent, en effet, un pouvoir activant très net vis-à-vis de la toxine diphtérique.

1° *Ils raccourcissent la période d'incubation de l'intoxication diphtérique.*

Avec la toxine pure et malgré des doses considérables, on ne peut réduire cette période à moins de dix heures ; le cerveau ou les lipoïdes toxiques, au contraire, tuent le cobaye en huit ou trente-six heures après une incubation de trois heures et demie à six heures. (voir tableau suivant).

Survie des cobayes injectés avec la toxine diphtérique pure par voie intracérébrale.

COBAYES	DOSE DE TOXINE PURE INJECTÉE par voie intracérébrale	PHÉNOMÈNES PRÉSENTÉS PAR LES COBAYES
N° 1. Poids : 350.	0,2	Malade à la 12e heure. Mort à la 48e heure.
N° 2. Poids : 520	0,15	Malade à la 15e heure. Mort en 36 heures
N° 3 Poids : 400	0,5	Malade à la 10e heure. Mort en 12 heures.

2° *Ils raccourcissent la durée de la maladie.*

Le phénomène se produit en mélangeant simplement les phosphatides et la toxine au moment même de l'injection. Les expériences rapportées dans les tableaux suivants montrent que la lécithine toxique tue le cobaye plus vite que la toxine seule par voie intra-cérébrale, et que l'addition de céphaline à la toxine diphtérique au moment même de l'injection active son action par voie sous-cutanée.

Des expériences poursuivies indépendamment des nôtres, par de Waele, confirment ces faits. Par addition de lécithine à la toxine diphtérique en injection sous-cutanée ou intra-cérébrale, cet auteur constata que l'incubation était raccourcie et la mort plus rapide. Pensant qu'il s'agissait d'un prolécithide qui, réuni à la lécithine, donnait un toxolécithide analogue à ceux isolés par Morgenroth et Carpi dans le venin du scorpion ou de l'abeille, de Waele a essayé, mais en vain, d'isoler cette combinaison de toxine diphtérique et de lécithine.

Activation de la toxine diphtérique par la lécithine (injection intracérébrale).

COBAYES	TOXINE DIPHTÉRIQUE DILUÉE À MOITIÉ DANS L'EAU STÉRILISÉE, à 7 pour 1000.	DOSE DE LÉCITHINE AJOUTÉE *in vitro* A LA TOXINE, avant l'injection.	MORT des COBAYES
N° 1	V gouttes	1/4 de milligramme	24 heures
N° 2	V —	1/2 milligramme	21 —
N° 3	V —	1 milligramme	24 —
N° 4	V —	6 milligrammes	12 —
N° 5	V —	0	36 —

Activation de la toxine diphtérique par la céphaline (injection sous-cutanée).

Nous ne citerons qu'une expérience entre quelques autres dont elle est le type.

Cobaye 1 : Reçoit 0^{cc},1 de toxine pure additionnée de 1/4 de milligramme de céphaline. Mort en vingt-quatre heures (Poids, 420 grammes). Cobaxe 2 : témoin, reçoit 0^{cc},1 de toxine pure. Mort en quarante-huit heures (Poids : 480 gremmes).

B. — *Pouvoir neutralisant de la substance nerveuse vis-à-vis de la toxine diphtérique.*

Plusieurs expérimentateurs et nous-mêmes avons pu constater que, par suite de l'injection sous-cutanée d'une seule dose mortelle de

toxine diphtérique mélangée à une grande quantité de matière cérébrale ou de lécithine (un quart de cerveau de cobaye, par exemple), le cobaye inoculé survit.

S'agit-il d'une action neutralisante? Le phénomène serait tout à fait intéressant; une petite dose de cerveau activerait la toxine, une grosse dose la neutraliserait.

De Waele pense qu'il s'établit un coefficient de partage du poison entre la lécithine injectée et les lipoïdes tissulaires, au désavantage de ces derniers. On peut supposer que la toxine, qui ne se libère que lentement et d'une manière progressive de cette masse de lipoïdes, peut ainsi se trouver facilement détruite par l'organisme.

Conclusions.

Il résulte de ces faits que le *poison diphtérique se fixe énergiquement sur la substance cérébrale et, en particulier, sur ses lipoïdes phosphorés, et que ses propriétés toxiques s'en trouvent activées. La matière nerveuse se montre donc, dans ce cas, absorbante, fixatrice et activante.*

ADSORPTION DE LA TOXINE TÉTANIQUE PAR LA SUBSTANCE NERVEUSE

POUVOIR FIXATEUR DU CERVEAU VIS-A-VIS DE LA TOXINE TÉTANIQUE

Contrairement au pouvoir neutralisant, le pouvoir fixateur du cerveau pour la tétanotoxine a été peu étudié. Seule, une expérience de

Pouvoir fixateur des lipoïdes du cerveau vis-à-vis de la toxine tétanique (injections sous-cutanées à la souris).

SUBSTANCE NERVEUSE	TITRE DE LA SOLUTION de toxine tétanique	DOSES INJECTÉES après lavages.	MOIS DE MAI									
			13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
Cerveau desséché. . .	1/50	0,1	o	o	T	T	T	M	»	»	»	»
Lécithine.	Pure	0,1	o	o	o	o	T	T	T	T	T	o
	—	0,2	o	T	T	T	T	M	»	»	»	»
	1/20	0,2	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
	—	0,15	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
	1/50	0,1	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
	—	0,2	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
Protagon.	Pure	0,1	o	o	o	o	o	o	o	M[1]	»	»
	—	0,2	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
	1/20	0,1	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
	—	0,2	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
Cérébrine	Pure	0,2	o	o	M	»	»	»	»	»	»	»
	1/20	0,1	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
	—	0,2	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
Cholestérine. . . .	Pure	0,1	o	o	o	o	T	T	T	T	M	»
	—	0,2	o	o	o	o	T	T	M	M	»	»

Les lettres T indiquent l'apparition des signes de tétanos ; les lettres M la mort de l'animal, M[1] mort sans tétanos.

Besredka permit à cet auteur de distinguer le pouvoir fixateur du pouvoir protecteur. Faisant macérer le cerveau avec la toxine tétanique, il constata que la substance nerveuse lavée était capable de donner le tétanos (cerveau toxique sursaturé) et que le pouvoir fixateur était plus grand que le pouvoir neutralisant. L'excès de toxine neutralisée et fixée a conservé encore ici les propriétés de la toxine tétanique pure et, tout comme celle-ci, elle peut être neutralisée par de l'antitoxine.

Nos expériences ont défini quelles étaient les substances fixatrices de la toxine tétanique dans le tissu nerveux.

Elles ont été faites suivant la technique que nous avons indiquée pour la toxine diphtérique, mais en pratiquant les inoculations à des souris par voie sous-cutanée. Les résultats obtenus montrent en premier lieu que le cerveau desséché reste en partie fixateur, malgré la destruction des substances protéiques.

Les lipoïdes phosphorés (lécithine), le protagon, les lipoïdes non phosphorés (cholestérine, cérébrine) sont actifs, mais ils le sont très peu, car, plongés dans une solution de toxine au 1/20, puis lavés, ils ne tuent plus la souris comme le montre le tableau ci-contre.

Pouvoir fixateur de l'albumine du cerveau vis-à-vis de la toxine tétanique (injections sous-cutanées à la souris).

TITRE DE LA SOLUTION de toxine tétanique	DOSE D'ALBUMINE TOXIQUE inoculée après lavage à la souris	MOIS DE MAI							
		13	14	15	16	17	18	19	20
Pure	0,1	0	0	T	M	»	»	»	»
—	0,2	0	0	T	T	M	»	»	»
—	0,3	0	0	T	T	M	»	»	»
1/20	0,1	0	0	T	M	»	»	»	»
—	0,2	0	0	T (*)	»	»	»	»	»

(*) Mort, le même jour.

Par contre, l'albumine du cerveau, préparée comme il a été dit plus haut, nous a toujours donné des résultats positifs, même avec la toxine diluée au 1/50e. Elle jouit donc d'un pouvoir fixateur intense vis-à-vis de la toxine tétanique, comme le montrent les travaux ci-joints, et cette constatation s'oppose au pouvoir fixateur nul que possède la même albumine vis-à-vis de la toxine diphtérique.

Pouvoir fixateur de l'albumine du cerveau vis-à-vis de la toxine tétanique (même technique).

TITRE DE LA SOLUTION de TOXINE TÉTANIQUE	DOSE D'ALBUMINE TOXIQUE INOCULÉE APRÈS LAVAGE à la souris	MOIS DE MAI ET JUIN												
		31	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Pure.	0,1	0	0	T	M	»	»	»	»	»	»	»	»	»
1/10	0,1	0	0	0	0	T	T	T	M	»	»	»	»	»
1/20	0,1	0	0	0	0	T	T	T	T	T	T	M	»	»
1/50	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	T	T	T	M
—	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	M[1]	»	»	»

M[1]. Mort sans tétanos.

Pouvoir fixateur de l'albumine du cerveau vis-à-vis de la toxine tétanique (même technique).

TITRE DE LA SOLUTION de TOXINE TÉTANIQUE	DOSE D'ALBUMINE TOXIQUE INOCULÉE APRÈS LAVAGE à la souris	MOIS DE JUILLET			
		11	12	13	14
1/10	0,1	0	T	M	»
1/20	0,1	0	T	T	M
1/20	0,1	0	T	T	M

Pouvoir fixateur de l'albumine du cerveau vis-à-vis de la toxine tétaniqne (même technique).

TITRE DE LA SOLUTION de toxine tétanique	DOSE D'ALBUMINE INOCULÉE après lavage à la souris	MOIS DE JUIN							
		14	15	16	17	18	19	20	21
1/10	0,1	0	0	T	T	M	»	»	»
1/20	0,1	0	0	0	0	T	T	T	0
1/50	0,1	Négatif.							
1/100	0,1	Négatif.							

En résumé, on peut conclure de ces recherches que parmi les constituants chimiques du cerveau, ce sont en partie les lipoïdes, mais surtout l'*albumine*, qui fixent la toxine tétanique.

PROPRIÉTÉS DES COMPLEXES FORMÉS PAR LE TISSU NERVEUX OU SES CONSTITUANTS CHIMIQUES AVEC LA TOXINE TÉTANIQUE

Tous les expérimentateurs, après Wassermann et Takaki, ont pu reproduire facilement le phénomène de neutralisation de la toxine tétanique par la substance nerveuse.

Le problème est plus délicat lorsque l'on cherche à réaliser ce phénomène avec différents corps extraits du cerveau. Sans vouloir revenir sur cette question, il ressort des recherches multiples faites à cet égard que le protagon et le cérébron seuls ont pu être isolés chimiquement, avec conservation de leurs propriétés antitoxiques.

Dans nos recherches, nous avons constaté, comme Marie et Tiffeneau, que le protagon jouit de propriétés antitoxiques très faibles si on les compare aux propriétés antitoxiques de la substance nerveuse totale. Il nous a fallu 10 centigrammes de protagon pour neutraliser cinq doses mortelles, pour la souris, de la toxine tétanique.

Pouvoir neutralisant du protagon et de l'albumine du cerveau vis-à-vis de la toxine tétanique[1] (injections sous-cutanées à la souris).

SUBSTANCE ÉTUDIÉE	DOSE DE LA SUBSTANCE ajoutée à la toxine tétanique avant l'injection	DOSES DE TOXINE tétanique	RÉSULTATS NOTÉS CHEZ LES SOURIS INOCULÉES
Protagon. .	10 centigrammes	1 dose	Pas de tétanos.
	10 —	5 —	Pas de tétanos.
	10 —	10 —	Tétanos, le 3e jour. Mort, le 5e.
Albumine..	5 —	1 —	Pas de tétanos.
	5 —	5 —	Pas de tétanos.
	5 —	10 —	Tétanos, le 3e jour. Mort, le 4e.
	5 —	20 —	Tétanos, le 2e jour. Mort, le 3e.
Témoin. . .	0 —	1 —	Tétanos, le 3e jour. Mort, le 10e.

1. Cette toxine tétanique était active pour la souris à la dose de 0,005 (une dose mortelle).

Nous avons pu obtenir des effets antitoxiques très nets avec les matières albuminoïdes isolées, comme il a été mentionné plus haut, et 0gr,05 de ces substances ont neutralisé jusqu'à cinq doses mortelles d'une toxine tétanique (voir tableau ci-contre). Ce pouvoir neutralisant, quoique faible, est déjà un progrès sur les résultats absolument négatifs fournis par l'albumine du cerveau, desséchée ou modifiée de toute autre manière. Il permet de présumer l'action considérable que cette substance doit avoir *in vivo,* là où elle possède la plénitude de ses moyens d'action, grâce à la complète intégrité de ses propriétés physico-chimiques, jointe au voisinage de ses congénères nerveux qui, en s'unissant à elle, peuvent multiplier ses effets.

Conclusion.

Il résulte de ces faits que *le poison tétanique se fixe énergiquement sur la substance cérébrale et, plus particulièrement sur ses constituantes protéiques et que ses propriétés toxiques se trouvent en même temps neutralisées. La matière nerveuse se montre donc, dans ce cas, adsorbante, fixatrice et neutralisante.*

CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES SUR L'ADSORPTION DES TOXINES DIPHTÉRIQUE ET TÉTANIQUE PAR LA SUBSTANCE NERVEUSE

Parallèle entre les deux toxines. — Ces faits dans leur ensemble éclairent la physiologie pathologique des deux toxi-infections diphtérique et tétanique. Ils montrent les caractères qui les rapprochent et les éloignent, et ces différences trouvent leurs raisons dans des combinaisons avec des substances différentes du tissu nerveux.

La clinique nous enseigne que toutes deux sont des maladies caractérisées par une infection restant toujours pour les uns, presque toujours pour les autres, localisée au point d'inoculation. Les bacilles y sécrètent des toxines qui, par la voie des nerfs, remontent jusqu'aux centres nerveux.

Nos faits cliniques et expérimentaux prouvent que ces toxines peuvent se retrouver fixées sur les cellules nerveuses au niveau de centres qui correspondent au siège des phénomènes cliniques, mais ici s'arrêtent les points communs.

Cliniquement on sait combien le tableau est différent : la toxine diphtérique, se combinant avec la substance nerveuse, détermine des paralysies ; la toxine tétanique produira le plus souvent des contractures.

L'expérimentation, enfin, nous apprend que la toxine tétanique est fixée et neutralisée, et que la toxine diphtérique est activée par le tissu nerveux. Il existe donc un contraste clinique et biochimique très net entre les deux intoxications. Peut-on éclairer ces faits, d'apparence si opposés?

Des recherches précédentes il résulte que les deux toxines adsorbées par le tissu nerveux contractent avec lui une combinaison complexe qui jouit d'une stabilité très marquée.

Ce complexe résiste aux lavages énergiques et répétés et, pour le dissocier, il faut avoir recours à des moyens plus efficaces. C'est en détruisant l'élément nerveux qui lui sert de support que l'on met la toxine en liberté et c'est en se fondant sur l'affinité considérable que possèdent les toxines pour les antitoxines correspondantes que l'on pourra libérer la substance nerveuse de cette combinaison et la rendre susceptible de fixer de nouvelles quantités de toxine.

Les expériences précédentes montrent, en outre, que la toxine diphtérique est fixée et activée par les éléments lipoïdes phosphorés du tissu nerveux et que la toxine tétanique est fixée et en particulier neutralisée par les substances protéiques.

Il y a donc opposition très nette entre les deux toxines.

Peut-on supposer que la toxine tétanique est convulsivante parce qu'elle s'attaque aux éléments albuminoïdes de la cellule nerveuse, et que la toxine diphtérique est paralysante parce qu'elle se fixe sur les phosphatides cellulaires? Il est actuellement encore impossible de répondre à cette question, et des recherches nouvelles sont nécessaires pour compléter ces faits.

VII

VARIA

De la stabilité des différents composés arsenicaux et en particulier de l'hectine et de l'arsenobenzol en présence des agents réducteurs (En coll. avec A. CHAUFFARD). *Société médicale des hôpitaux de Paris*. 18 novembre 1910, p. 480.

Il nous a paru intéressant et utile de présenter à la Société médicale des hôpitaux les résultats objectifs d'expériences chimiques très simples, qui permettent de comparer entre eux les différents composés arsenicaux, minéraux et organiques, au point de vue de leur *stabilité* vis-à-vis des agents réducteurs, et en particulier du réactif de Bougault.

Cette recherche, classique pour les composés arsenicaux déjà anciens, n'avait pas encore été faite pour l'hectine ni l'arsénobenzol, et l'un des réactifs dont nous parlerons n'avait pas encore été employé. Nous aurons pour but principal, dans notre exposé, de faire connaître et *voir* les résultats très suggestifs que nous ont donnés ces recherches.

Le réactif de Bougault est une solution d'acide hypophosphoreux dans l'acide chlorhydrique, répondant à la formule suivante :

Hypophosphite de soude.	20 grammes
Eau.	20 centimètres cubes
Acide chlorhydrique (D. = 1,17). .	200 centimètres cubes

C'est un *agent réducteur* intense pour les composés arsenicaux, et en même temps un *réactif très sensible*, puisque, d'après Bougault, il permet de déceler 1/50e et même 1/200e de milligramme d'anhydride

Action du réatif de Bougault sur les divers composés arsenicaux, au bain-marie bouillant.

	FORMULE DE CONSTITUTION (MOINS L'EAU DE CRISTALLISATION)		NATURE DES CORPS RÉDUITS
Arsénites de potasse.	$O = As(-H)(-OK)(-OK)$..., etc.	Précipité noir immédiat.	Arsenic.
Arséniate de soude.	$O = As(-OH)(-ONa)(-ONa)$	Précipité noir presque immédiat.	Arsenic.
Eau de la Bourboule.	»	Léger précipité noir et coloration brune de la liqueur.	Arsenic.
Arrhénal (Méthylarsinate disodique).	$O = As(-CH^3)(-ONa)(-ONa)$	Précipité blanc devenant rapidement noir.	Méthylarsenic polymérisé.
Cacodylate de soude (Diaméthylarsinate de soude).	$O = As(-CH^3)(-CH^3)(-ONa)$	Odeur alliacée immédiate. Dépôt arsenical sur les parois supérieures du tube, si la quantité de cacodylate est supérieure à 1/2 milligramme environ.	Oxyde de cacodyle.
Atoxyl (Anilarsinate de soude).	$O = As(-\underline{C^6H^4 - NH^2})(-OH)(-ONa)$	Précipité jaune, puis marron et enfin noir au bout de quelques heures.	Anilarsenic (Le précipité devenu noir contient de fortes proportions d'arsenic libre).
Arsénobenzol ou 606 (Dioxydiaminoarsénobenzol).	$As - \underline{C^6H^3(OH)(NH^2)}$ ‖ $As - \underline{C^6H^3(OH)(NH^2)}$	Précipité jaune rougeâtre, puis marron et enfin marron foncé au bout de plusieurs heures.	Nature inconnue.
Hectine (Benzosulfoneanilarsinate de soude).	$O = As(-\underline{C^6H^4 - NH - SO^2 - C^6H^5})(-OH)(-ONa)$	Précipité blanc, puis jaune apparaissant rapidement, mais ne brunissant pas même au bout de plusieurs heures.	Nature inconnue.

arsénieux, Pour son emploi, il suffit d'ajouter à 1 centimètre cube du liquide arsenical à essayer 5 centimètres cubes environ du réactif.

La réaction s'opère lentement à froid. Elle est plus rapide lorsqu'on ajoute au mélange une à deux gouttes de solution décinormale d'iode, ou qu'on chauffe pendant une demi-heure à une heure au bain-marie bouillant. C'est ce dernier procédé que nous avons mis en pratique, et le tableau précédent montre les résultats obtenus.

Tout aussi suggestifs sont les résultats obtenus avec un autre réducteur: le protochlorure d'étain. Ce réactif que nous avons préparé en dissolvant une partie de grenaille d'étain dans deux parties d'acide chlorhydrique concentré ($D = 1,17$), ne possède pas la sensibilité de l'acide hypophosphoreux et ne peut en aucune manière servir à déceler des traces d'arsenic. Appliqué aux recherches sur la stabilité des composés arsenicaux, il nous a conduit à des constatations intéressantes, qui viennent à l'appui des expériences précédentes.

Nous avons consigné dans le tableau suivant les résultats obtenus en faisant agir au bain-marie bouillant cinq centimètres cubes environ de ce réactif sur le composé arsenical dissous dans 1 centimètre cube d'eau.

Action du protochlorure d'étain chlorhydrique sur les divers composés arsenicaux au bain-marie bouillant.

		NATURE DES CORPS RÉDUITS
Arsénites alcalins. . .	Précipité noir immédiat.	Arsenic et hydrogène arsénié.
Arséniate de soude.	Précipité noir se produisant un peu moins rapidement.	Arsenic et hydrogène arsénié.
Eau de la Bourboule.	Réaction négative.	Nature inconnue.
Arrhénal.	Précipité jaune devenant rapidement noir.	Nature inconnue.
Cacodylate de soude.	Odeur alliacée immédiate, précipité marron et dépôt marron sur les parois supérieures du tube.	Nature inconnue.
Aloxyl.	Précipité jaune, puis marron et enfin noir au bout de quelques heures.	Nature inconnue.
Arsénobenzol. . . .	Précipité marron apparaissant *très lentement* et devenant marron foncé au bout de plusieurs heures.	Nature inconnue.
Hectine.	Précipité blanc apparaissant rapidement, puis jaune, *ne brunissant pas*, même au bout de plusieurs heures.	Nature inconnue.

Ce qui frappe tout d'abord, en comparant ces résultats, c'est de voir quelles différences profondes séparent, au point de vue de leur *stabilité*, les divers corps arsenicaux.

Qu'il s'agisse d'un complexe hydro-minéral, comme l'eau de la Bourboule, ou de composés définis, les corps arsenicaux minéraux sont immédiatement attaqués par ces agents réducteurs, et leur arsenic est mis en liberté. L'instabilité de la molécule arsenicale a comme corollaire thérapeutique la toxicité de ces produits et la nécessité de ne les employer qu'à très faibles doses.

Il en va tout autrement pour les composés arsenicaux organiques qui résistent plus énergiquement aux différents agents chimiques. Ici, l'adjonction à la molécule, de restes organiques où le carbone est uni directement à l'arsenic, confère au composé une stabilité considérable : Les *agents d'oxydation* les plus énergiques comme l'acide nitrique, le permanganate de potasse, l'acide chromique sont incapables de scinder la molécule à l'endroit de l'atome d'arsenic. C'est ainsi, par exemple, que l'on cherche en vain la présence d'acide arsénique dans l'arrhénal, comme dans l'arséno-benzol traités par l'eau régale, même à l'ébullition.

La résistance de ces composés aux *agents de réduction*, quoique aussi très énergique, est cependant moins absolue dans son ensemble et l'on peut saisir ici toute une gradation dans ce phénomène. Ce sont d'abord les premiers termes (arrhénal, cacodylate), qui cèdent facilement à l'action réductrice et mettent en liberté un composé arsenical relativement simple (méthylarsenic, oxyde de cacodyde); puis les termes moyens (atoxyl) dont le produit de décomposition est plus complexe (anilarsenic), mais susceptible encore d'être simplifié par une action persistante du réactif. Enfin viennent les composés les plus stables ; là, le précipité s'élabore lentement et brunit très difficilement sans toutefois noircir (arsénobenzol), ou apparaît plus rapidement, mais garde intégralement sa teinte claire primitive (hectine). La stabilité de la molécule arsenicale, faible pour les premiers termes, puisque la réduction peut aller jusqu'à la mise en liberté d'arsenic, croît à mesure que l'on s'éloigne d'autant plus des composés minéraux. Pour les composés les plus stables, il n'y a plus de mise en liberté d'arsenic métallique, mais d'un arsenic organique dont la complexité semble nettement en rapport avec l'importance de la molécule.

Ces expériences très simples permettent de comprendre la tolérance

de l'organisme pour les très hautes doses employées en médecine de ces médicaments arsenicaux. Il semble donc que la tolérance et l'activité thérapeutique soient fonction de ces éléments qui sont le corollaire l'un de l'autre : *la stabilité chimique, la nature et le poids du groupement organique* fixé sur l'atome d'arsenic.

Mais si ces différents composés arsenicaux se groupent et s'ordonnent chimiquement en une sorte de famille naturelle, il n'en reste pas moins vrai que, suivant les cas, chacun d'eux présente ses affinités thérapeutiques électives, dont l'expérience clinique a donné des preuves. Alors que pour la *syphilis* les composés stables et à molécule très complexe sont certainement les plus actifs, le cacodylate de soude reste le médicament de choix pour la *tuberculose*, l'arrhénal pour le *paludisme*, l'atoxyl pour la *maladie du sommeil*. Enfin, dans les formes curables, au moins temporairement, de *l'anémie pernicieuse*, c'est au sel dont la réduction est la plus facile, à l'arsénite de potasse, qu'il convient de recourir. Lui seul paraît en ce cas vraiment efficace, et on peut se demander si la cause n'en est pas dans une *diminution du pouvoir réducteur des organes* au cours de l'anémie pernicieuse, qui ne rendrait réductibles, et par cela même actifs, que le composé arsenical le plus instable.

Hémorragies occultes bronchiques et buccales (En coll. avec Charles Richet fils). *Société de Biologie*, 28 mai 1910, p. 908.

Au cours de recherches faites en vue d'établir le diagnostic d'hémoptysies occultes, nous avons constaté que la réaction de Meyer était presque toujours positive dans les crachats examinés directement ou portés à l'ébullition. Ce fait s'observe aussi bien dans les affections qui provoquent de grosses hémoptysies, que dans celles qui cliniquement ne s'accompagnent pas d'hémorragies bronchiques. L'origine bronchique de ce suintement sanguin n'est pas douteuse, car le crachat lavé à grande eau donne encore une coloration rouge avec la phénolphtaléine réduite et l'eau oxygénée. La bronchorragie évidente ou minime est donc de règle dans les affections de l'arbre respiratoire.

Cette tendance à l'hémorragie est encore plus accentuée pour la muqueuse buccale, car, même chez des individus normaux, dans le liquide buccal ou mieux dans une petite quantité d'eau (20 à 30 cen-

timètres cubes) ayant servi à rincer la bouche, on peut déceler la présence du sang.

Sans parler des hémorragies indiscutables qui donnent à la salive une coloration nettement rosée, on observe fréquemment après centrifugation du liquide, des hématies en nombre plus ou moins considérable, et constamment, ou à peu près, la réaction de Meyer est positive. Elle persiste ici également après ébullition prolongée. Ce résultat toujours positif s'oppose au résultat toujours négatif obtenu chez les individus normaux avec l'urine, le suc gastrique, les matières fécales. Les ulcérations minimes dont la présence du sang semble démontrer l'existence, sont donc de beaucoup plus fréquentes au niveau de la muqueuse buccale qu'au niveau des autres muqueuses. C'est là une preuve de plus pour montrer que la cavité buccale est une des régions les plus fragiles du revêtement cutanéo-muqueux. Ces effractions facilitent l'entrée des différents agents pathogènes et expliquent la fréquence, et des septicémies d'origine buccale, et des infections régionales (adénopathies tuberculeuses).

Concrétions intestinales en imposant pour des calculs biliaires chez un malade atteint de coliques hépatiques (En coll. avec Roger Glénard). *Société de Biologie*, 2 mai 1914, p. 727.

Ces pseudo-calculs furent rejetés à la suite de douleurs abdominales diffuses coexistant avec des crises violentes de coliques hépatiques. Ils furent naturellement jugés d'origine biliaire d'autant plus qu'ils brûlaient facilement avec une flamme éclairante. L'examen chimique donna les résultats suivants :

Eau		10 gr. 08
Cholesterine		1 gr. 25
Coprostérine		1 gr. 30
Graisses		24 gr. 26
Sels biliaires		10 gr. 32
Pigments biliaires vrais		néant
Urobiline et pigments divers		14 gr. 47
Résidu minéral		14 gr. 32
Dont CaO	5 gr. 63	
P^2O^5	4 gr. 22	

pour 100 grammes de calcul.

Examinés au microscope après pulvérisation, ces calculs se montraient renfermer une proportion abondante de débris végétaux : fibres spiralées, cellules scléreuses, poils végétaux. On y rencontrait en outre quelques cristaux de phosphate ammoniaco-magnésien et des œufs de tricocéphale.

La présence d'éléments végétaux, d'œufs de parasite, de coprostérine et d'urobiline montrait surabondamment qu'il s'agissait de concrétions intestinales. L'existence d'une abondante quantité d'urobiline suffisait d'ailleurs à elle seule pour trancher le diagnostic entre calculose biliaire et calculose intestinale, les calculs biliaires ne contenant pas ou presque pas d'urobiline. Les calculs dont nous rapportons l'observation se sont développés dans le milieu intestinal à la faveur d'une constipation opiniâtre dont était atteint de longue date le malade.

Essai de traitement de la grippe par la plasmothérapie (injections intra-veineuses de plasma de convalescent) (En coll avec Fr. Moutier). *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, 18 novembre 1918, p. 765.

Nous avons été frappés de ce fait que la grippe, maladie cyclique, tourne court vers le septième jour (dans un sens favorable ou non) que des complications broncho-pulmonaires soient ou non en cause. Nous avons pensé qu'en fournissant à l'organisme dès le début de l'infection les substances immunisantes qu'il doit élaborer pour faire les frais de la crise, on pourrait abréger et rendre favorable le cycle morbide.

Nos essais ont porté exclusivement sur des grippes à forme pulmonaire. Les donneurs, indemnes de tout antécédent syphilitique, paludéen, etc., étaient des convalescents de complications très graves. La saignée fut faite du quatrième au sixième jour de la convalescence, selon la technique suivante :

Le sang est prélevé dans la veine du pli du coude au moyen d'une grosse aiguille. On le reçoit, avec toutes les précautions aseptiques, dans des ballons stériles renfermant quelques centimètres cubes d'une solution de citrate de soude à 10 pour 100. La quantité de citrate de soude est calculée de manière à obtenir un mélange citraté à 4 pour 1000. Il est important, pour éviter les coagulations, d'agiter le récipient pendant toute la durée de la saignée et de veiller à ce

qu'aucune parcelle du sang recueilli n'ait été en contact avec les tissus. Après sédimentation spontanée des hématies à basse température, le plasma décanté est enfermé dans des vases stériles. Si, par suite d'une décantation trop brusque, quelques hématies venaient souiller le plasma, il n'y a pas lieu de s'en préoccuper.

Les injections auxquelles nous avons procédé sur l'homme correspondent à des plasmas âgés de 4 heures au moins et de 8 jours au plus, c'est-à-dire à des saignées faites depuis un temps compris entre ces deux limites. Indifféremment, nous avons employé le plasma fourni par un seul sujet ou le mélange de plasmas provenant de plusieurs donneurs. L'injection a été pratiquée lentement à la seringue ou plus commodément à l'aide d'un dispositif à écoulement continu dans le cas de fortes doses. Ces doses ont varié entre 50 centimètres cubes et 500 centimètres cubes en 24 heures en une seule injection ou en injections répétées, sans que dans aucun cas nous n'ayons observé de réaction immédiate ou éloignée.

Il existe un contraste remarquable entre la sécurité que présente l'injection de plasma et la surveillance attentive que nécessitent toujours plus ou moins les injections intra-veineuses de sérums spécifiques ou de métaux colloïdaux.

Les résultats thérapeutiques obtenus ont été entièrement différents selon que le traitement fut précoce ou tardif. Sur 65 cas de grippe à forme pulmonaire reçus dans notre service, 10 choisis parmi les plus graves d'emblée ont subi le traitement plasmothérapique, 8 traités avant le troisième jour ont été l'objet *d'une amélioration immédiate, saisissante, sous le triple rapport de la température, de l'état général et des accidents pulmonaires*; brusquement la maladie tourna court et la crise se produisit en 24 heures. Il a suffi la plupart du temps d'une seule injection de 60 centimètres cubes et pour obtenir un tel résultat.

Au contraire, dans les deux autres cas traités après le cinquième jour, la maladie a suivi son évolution fatale, malgré les fortes doses employées (500 centimètres cubes en 24 heures).

Ainsi donc l'injection intra-veineuse de plasma de convalescent, pratiquée au début de la grippe, semble hâter l'immunisation de l'organisme et provoque une crise précoce. Pratiquée à une période tardive de la maladie, cette thérapeutique reste sans effet, comme si à ce stade ultime l'organisme n'était pas plus capable d'utiliser les

substances immunisantes qu'on lui fournit, qu'il n'a été capable de provoquer sa crise de par lui-même.

La déshydratation du pancréas dans le coma diabétique (En coll. avec A. Chauffard). *Société médicale des Hôpitaux*, 7 novembre 1919, p. 939.

A plusieurs reprises avec M. le Pr Chauffard nous avons pu constater l'état de déshydratation intense dont sont le siège différents organes du diabétique mort dans le coma. Certains tissus, le muscle par exemple, ne se trouvent pas déshydratés ; d'autres comme le foie ne le sont qu'à un faible degré, 15 pour 1 000, 20 pour 1 000, 12 pour 1 000. Pour le rein la déshydratation est variable, elle peut atteindre 60 pour 1 000.

Mais le fait le plus curieux est la *profonde déshydratation du pancréas* que nous avons trouvé dans un cas égale à 170 pour 1 000. Cette déshydratation pancréatique ne semble pas liée à un état de sclérose de la glande, car, sur des coupes histologiques aucune lésion scléreuse n'a été constatée. Il est permis de penser que cette déshydratation élective du pancréas est en rapport avec le rôle certain que joue la glande pancréatique dans la pathogénie du diabète Peut-être correspond-elle à un épuisement terminal de la glande, à un arrêt de sa sécrétion ayant pour cause la disparition d'une partie de l'eau de constitution tissulaire.

TABLE DES MATIÈRES

I

CHOLESTÉRINE

II

ACIDE URIQUE

III

GLUCOSE

IV

AZOTE NON PROTÉIQUE

V

UROBILINE ET BILIRUBINE

VI

TOXINES DIPHTÉRIQUE ET TÉTANIQUE

VII

VARIA

CHARTRES. — IMPRIMERIE DURAND, RUE FULBERT.